

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS  
PULSATILER GONADOTROPINFREISETZUNGEN  
AUF DIE PROGESTERONSEKRETION BEIM RIND

Anna Maria Schöndorfer

1982  
—





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554007\\_0099](https://archive.org/details/IA41554007_0099)



Aus dem Institut für Physiologie  
der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt  
für Milchwirtschaft Weißenstephan  
der Technischen Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Heinrich Karg

Untersuchungen über den Einfluß pulsatiler  
Gonadotropinfreisetzungen auf die Progesteron-  
sekretion beim Rind

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von  
Anna Maria Schöndorfer  
aus  
Moers

München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der  
Tierärztlichen Fakultät der  
Universität München

|              |                      |
|--------------|----------------------|
| Dekan:       | Prof. Dr. G. Terplan |
| Referent:    | Prof. Dr. H. Karg    |
| Korreferent: | Prof. Dr. M. Rüsse   |

Tag der Promotion: 26. Februar 1982



# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                    | Seite |
|--------------------------------------------------------------------|-------|
| Vorbemerkung                                                       | 1     |
| 1 Literatur                                                        | 3     |
| 1.1 Progesteron                                                    | 3     |
| 1.1.1 Biosynthese des Progesterons                                 | 3     |
| 1.1.2 Abbau und Ausscheidung                                       | 6     |
| 1.1.3 Plasmabindung                                                | 7     |
| 1.1.4 Speicherung im Fettgewebe                                    | 9     |
| 1.2 Hormonwirkung                                                  | 11    |
| 1.2.1 Peptidhormonwirkung in der Zelle                             | 11    |
| 1.2.2 Steroidhormonwirkung in der Zelle                            | 12    |
| 1.3 Interaktionen zwischen Steroidhormon-<br>rezeptoren            | 16    |
| 1.3.1 Östrogene und ihre Kontrolle über den<br>Progesteronrezeptor | 16    |
| 1.3.2 Kontrolle des Östrogenrezeptors durch<br>Progesteron         | 17    |
| 1.4 Neuroendokrine Regulation des Zyklus                           | 18    |
| 1.4.1 Hypothalamus- Adenohypophyse                                 | 18    |
| 1.4.2 Hypothalamus- Neurohypophyse                                 | 20    |
| 1.4.3 Hypothalamus- Adenohypophysen- Gonaden-<br>System            | 20    |
| 1.5 Pulsatile Hormonfreisetzung                                    | 23    |
| 1.5.1 Pulsatile Freisetzung der Gonadotropine                      | 23    |
| 1.5.2 Gonadotropinausschüttung- Freisetzung<br>von Sexualhormonen  | 24    |
| 1.6 Der Brunstzyklus beim Rind                                     | 25    |
| 1.6.1 Hormonprofile                                                | 25    |
| 1.6.2 Rückkopplungsmechanismen                                     | 26    |

|       | Seite                                                                                  |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 2     | Material und Methoden 33                                                               |
| 2.1   | Versuchstiere, Blutproben und Zyklus-<br>feststellung 33                               |
| 2.2   | Radioimmunologische Progesteronbe-<br>stimmung 34                                      |
| 2.2.1 | Materialien 34                                                                         |
| 2.2.2 | Untersuchungsverfahren 37                                                              |
| 2.2.3 | Gültigkeitskriterien 44                                                                |
| 2.3   | LH- und FSH- Bestimmungen 49                                                           |
| 2.4   | Definitionen für die Ergebnisinter-<br>pretationen 50                                  |
| 3     | Ergebnisse 54                                                                          |
| 3.1   | Versuchstier "Kona" 54                                                                 |
| 3.2   | Versuchstier "Rotina" 66                                                               |
| 3.3   | Versuchstier "Rinette" 80                                                              |
| 3.4   | Versuchstier "Rodos" 94                                                                |
| 3.5   | Versuchstier "Lolla" 108                                                               |
| 3.6   | Versuchstier "Butzl" 120                                                               |
| 4     | Diskussion 133                                                                         |
| 4.1   | Einfluß der Progesteronkonzentrationen<br>im Plasma auf die LH- und FSH- Sekretion 133 |
| 4.1.1 | Zyklustage -2 bis +3 133                                                               |
| 4.1.2 | Frequenzänderungen während der Luteal-<br>phase, Tage +4 bis -3 136                    |
| 4.2   | Zeitliche Beziehung zwischen LH- und<br>FSH- Freisetzung 139                           |
| 4.3   | Zeitlicher Bezug zwischen Gonadotropin-<br>und Progesteronfreisetzung 140              |
| 4.4   | Kurzzeitschwankungen des Progesterons 142                                              |
| 4.5   | Beziehungen zwischen Kurzzeitschwankun-<br>gen und Tageszeit 143                       |

|                      | Seite |
|----------------------|-------|
| Zusammenfassung      | 144   |
| Abstract             | 146   |
| Literaturverzeichnis | 148   |
| Tabellenanhang       | 161   |
| Lebenslauf           | 168   |

## ABKÜRZUNGEN

|       |                                |
|-------|--------------------------------|
| cpm   | counts per minute              |
| FSH   | Follikelstimulierendes Hormon  |
| GnRH  | Gonadotropin- Releasing Hormon |
| hCG   | Human Chorionic Gonadotropin   |
| HVL   | Hypophysenvorderlappen         |
| LH    | Luteinisierungshormon          |
| p. i. | post injektionem               |

## HINWEIS

Die Seiten 53, 65, 79, 93, 107 und 119 bleiben unbenutzt, um auf den folgenden Seiten die Gegenüberstellungen der korrespondierenden Tabellen und Abbildungen zu ermöglichen.

## V o r b e m e r k u n g

Das Gelbkörperhormon Progesteron ist ein wesentlicher Parameter zur labordiagnostischen Erfassung des Brunstzyklus beim Rind; folgende Eigenschaften des Sexualhormons sind dabei von Bedeutung.

Die Konzentration im peripheren Blutplasma weist eine Beziehung zur Funktion des Corpus luteum bei der Kuh auf (Stabenfeldt et al. 1969). Bisher wurde angenommen, daß sich während einer bestimmten Zeitspanne keine extremen Konzentrationsschwankungen ergeben. Die jeweilige Hormonkonzentration läßt einen Rückschluß auf den Zyklusstand zu und ist zwischen den einzelnen Tieren vergleichbar (Günzler et al. 1979). Die Methoden der Hormonbestimmung sind spezifisch und gleichzeitig relativ unempfindlich gegen störende testspezifische Einflüsse. Routinetests lassen sich sowohl mit Blutproben als auch mit Milchproben durchführen (Hoffmann u. Hamburger 1973).

Diese wichtigen Voraussetzungen haben dazu geführt, daß dieses Hormon sowohl für die Zyklusdiagnostik als auch für die Fertilitätskontrolle große Bedeutung erlangt hat (Günzler et al. 1975).

Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, eine Aussage über die basale Progesteronsekretion an verschiedenen Tagen des Zyklus beim Rind zu treffen.

Gleichzeitig wird versucht, eventuelle Zusammenhänge zwischen LH- und FSH- Ausschüttung und der Progesteronsekretion darzustellen.

Diese Dissertation ist ein Teilprojekt der Arbeiten zur Charakterisierung der Regulation der Gonadotropinsekretion beim Rind.

Im Rahmen dieser Arbeitsgruppe, die von Dr. med. vet. E. Schallenberger geleitet wird, erfolgte auch die Durchführung der LH- und FSH- Bestimmungen, die vergleichend in dieser Arbeit berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse der LH- Messungen sind bereits in der Diplomarbeit Oerterer (1980) dargestellt.

Der Schwerpunkt der eigenen Experimentalarbeit lag auf der analytischen Erfassung des Progesterons.

## 1. LITERATUR

### 1.1 Progesteron

#### 1.1.1 Biosynthese des Progesterons

Bisher wurde das Steroidhormon Progesteron vor allem in Ovarzellen, in der Plazenta, im Blut und in der Nebennierenrinde gefunden.

Das Ovar verfügt über Gonadotropinrezeptoren (s. 1.3.1), durch deren Stimulation die Progesteronsynthese induziert wird.

Alle Zellen, die Steroide produzieren können, verfügen über ähnliche Enzymsysteme, die schließlich den gemeinsamen Syntheseweg verschiedener Steroide ermöglichen (Karlson 1974, Henricks u. Mayer 1977). Von seiner chemischen Struktur her gehört Progesteron zu den  $C_{21}$ -Steroiden (Gestagene). Die Summenformel lautet  $C_{21}H_{30}O_2$ . Das Molekül zeichnet sich durch Ketogruppen an  $C_3$  und  $C_{20}$  sowie durch die Doppelbindung zwischen  $C_4$  und  $C_5$  aus.

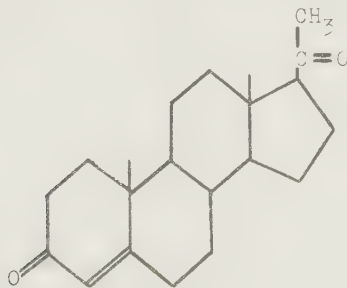


Abbildung 1:

Strukturformel für Progesteron nach Karlson (1974)

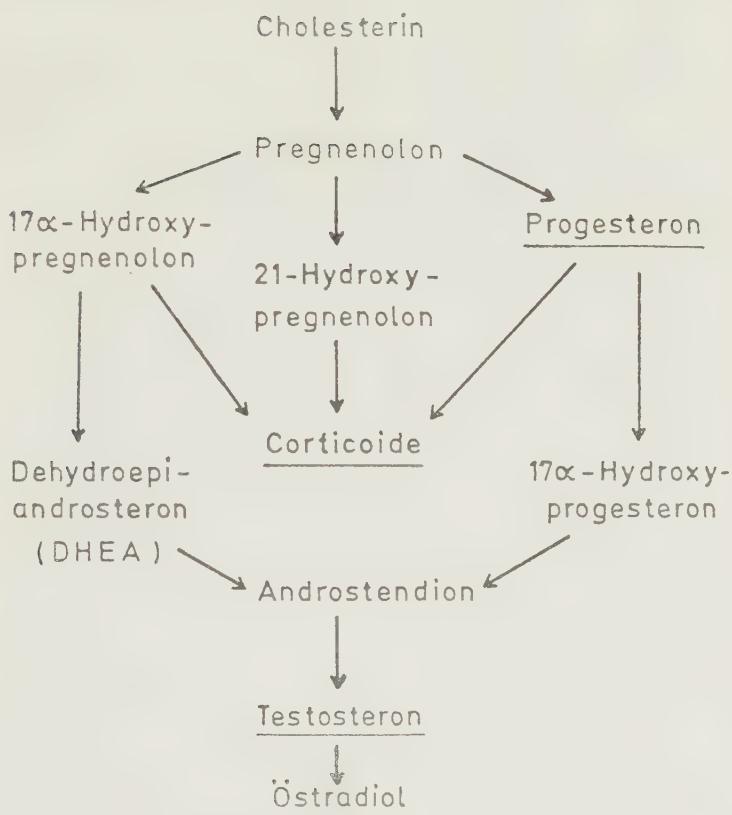
Ausgangssubstanz für die Progesteronsynthese in der Zelle ist das Acetyl- Co A (aktivierte Essigsäure). Unter Verbrauch von NADPH entsteht Mevalonsäure, die als aktives Mevalonsäurediphosphat in Farnesylldiphosphat ( $C_{15}$ ) überführt wird. Durch Kondensation der zwei  $C_{15}$ - Ketten entsteht schließlich Squalen ( $C_{30}H_{50}$ ), das bei Säugetieren nur in kleiner Menge nachweisbar ist und zuerst aus der Haifischleber isoliert wurde, entsteht durch verschiedene Reaktionsschritte Lanosterin, das dann weiter zu Cholesterin umgewandelt wird (Karlson 1974).

Die Bildung von Pregnenolon aus Cholesterin findet in den Mitochondrien statt. Dort reagiert die Seitenkette des Cholesterins mit einem "Multi- Enzym-System", das Sauerstoff und NADPH für die Hydroxylierung zur Verfügung stellt, bei der die Seitenkette zwischen  $C_{20}$  und  $C_{22}$  abgespalten wird.

Der limitierende Schritt ist die Hydroxylierung des Cholesterins in  $C_{20}$ - Position, die durch LH stimuliert werden kann (Henricks u. Mayer 1977). Pregnenolon wird aus den Mitochondrien freigesetzt, um für die Synthese verschiedener Steroidhormone im endoplasmatischen Reticulum verfügbar zu sein. Damit ist Pregnenolon der Vorläufer der Steroidhormone, die in Nebennierenrinde, Plazenta, Hodenzellen und Ovarzellen produziert werden.

Durch Dehydrierung an  $C_3$  entsteht aus Pregnenolon das Progesteron. Es wird dann entweder als organotropes Hormon in die Blutbahn freigesetzt oder als Zwischenprodukt für andere Hormone in der Zelle zurückgehalten (Karlson 1974, Henricks u. Mayer 1977) (siehe Abbildung 2 ).

Abb. 10.10.1



Hauptsynthesewege der Steroidhormone  
(Träger 1977)

Hansel et al. stellten 1973 fest, daß das bovine Corpus luteum sowohl Progesteron, seinen Metaboliten 4- Pregnen- 20 $\beta$ -ol- 3-on als auch geringere Anteile anderer Metaboliten produziert.

### 1.1.2 Abbau und Ausscheidung

Das Ovar selbst wandelt Progesteron entweder in 20 $\alpha$  oder 20 $\beta$ - Dihydroprogesteron um (Kuh, Schaf). Das ovarielle Enzymsystem hat anscheinend eine wichtige Kontrollfunktion über die Progesteronsynthese.

In den Zielzellen wird Progesteron in 5 $\alpha$ / $\beta$ -Pregnan-dion, weiter in 5 $\alpha$ / $\beta$ -Pregnanolon und schließlich in 5 $\alpha$ / $\beta$ -Pregnandiol überführt. Dabei können acht verschiedene Isomere des Pregnandiols entstehen. Wesentlich für die Inaktivierung des Progesterons ist die Reduktion im Ring A (Karlson 1974, Henricks u. Mayer 1977).

Die Glucuronyltransferase der Leber ist für den Transfer von Glucuronsäure auf Steroide verantwortlich. Durch die Konjugation mit Glucuronsäure wird der größte Teil des Pregnandiols mit der Galle ausgeschieden. Die Umsetzung mit Glutathion führt ebenfalls zu ausscheidungsfähigen Derivaten.

Die Abhängigkeit der biliären Exkretion vom Molekulargewicht ist spezie- und strukturspezifisch. Unterhalb einer bestimmten Schwelle ( Ratte MG 325  $\pm$  50, Meerschweinchen MG 400  $\pm$  50 und Kaninchen MG 475  $\pm$  50) werden organische Anionen nicht mehr biliär ausgeschieden. Molekülgröße, Polarität und chemische Struktur determinieren die Exkretionsrate mit der Galle.

Mit der Sekretion der Galle erreichen die Stoffe schließlich den Darm, wo sie dem Einfluß bakterieller Enzyme ausgesetzt sind. Neben strukturverändernden Reaktionen spielen vor allem die bakteriellen  $\beta$ -Glucuronidasen eine große Rolle, weil nach der Hydrolyse von Glucuroniden in der Regel wieder lipoidlösliche Stoffe entstehen, die reabsorbiert werden (Enterohepatischer Kreislauf). Der mit den Faeces endgültig ausgeschiedene Anteil hängt vom Ausmaß der Reabsorption bzw. der Sekretion durch das Mukosaepithel in das Darmlumen ab (Forth et al. 1977).

Nach Verabreichung von  $^{14}\text{C}$ -Progesteron bei Milchkühen erscheinen 50% des markierten Steroids in den Faeces und 3% im Urin. Möglicherweise erfolgt in der Leber auch eine Umwandlung des Progesterons in Androgene. Normalerweise wird Progesteron selbst nicht mit dem Urin ausgeschieden; der primäre Metabolit ist 5 $\beta$ Pregnan-3 $\alpha$ , 20 $\alpha$  diol. Dieser Metabolit wurde bei vielen Spezies nachgewiesen (Henricks u. Mayer 1977).

### 1.1.3 Plasmabindung

Die Interaktion von Sexualhormonen mit intrazellulären Rezeptoren hängt von der Menge ungebundenen, also freien Hormons ab. Sexualsteroiden gehen eine Bindung mit vielen Makromolekülen ein, die im Blut gefunden werden. Die Affinität der Plasmarezeptorproteine kann dabei sehr unterschiedlich sein (Clark et al. 1977).

Albumin, eine Komponente vaskulären und extrazellulären Plasmas, hat zwar eine relativ geringe Affinität und keine Spezifität für Steroide, trotzdem kommt ihm eine bedeutende Rolle als Vehikel für Steroide zu; 90% der Steroide liegen im Plasma an Albumin gebunden vor (Baulieu 1975).

Da die Konzentration des Serumalbumins etwa 4% beträgt, kann die Steroidfunktion an der Zelle erheblich beeinflußt werden (Clark et al. 1977).

Dem Albumin kommt jedoch nicht nur eine Vehikelfunktion zu, sondern es hat auch eine bedeutende funktionell-regulative Wirkung. Durch die Speicher- und Pufferwirkung des Serumalbumins erfolgt eine verlangsamte Stoffwechselwirksamkeit, eine verlangsamte Ausscheidung, eine verringerte Adsorption an Oberflächenstrukturen und eine Schutzfunktion gegenüber Leberenzymen. Neben den Albuminen existieren spezifischere Bindungsproteine, die zur Gruppe der Globuline gehören und durch höhere Assoziationskonstanten bei geringerer Bindungskapazität ausgezeichnet sind.

An Plasmaproteine gebundenes Progesteron ist biologisch inaktiv. Es handelt sich dabei jedoch um reversible Bindungen, so daß Progesteron sehr schnell wieder in biologisch aktiver Form im Plasma vorliegen kann (Hoffmann 1972).

Westphal (1971) vermutete, daß an den Erfolgsorganen eine Konkurrenzsituation zwischen einem hoch spezifischen Zellrezeptorprotein mit einer sehr hohen Bindungsaffinität und den weniger spezifischen Plasmaproteinen mit einer geringeren Bindungsaffinität besteht.

Die Menge des freien Steroids in vivo hängt jedoch

nicht nur von der Blutbindungskapazität ab, sondern auch von der Metabolisierungs- und Ausscheidungsrate des Hormons. Die Halbwertszeit intravenös verabreichten Progesterons beträgt nach Träger (1977) nur fünf Minuten. Zwischen der Gabe des Steroids und der Sekretion der entsprechenden Metabolite besteht eine größere zeitliche Diskrepanz (ca. 1 Tag), da nach Meinung des Autors durch den enterohepatischen Kreislauf die Ausscheidung stark verzögert wird. Nach Untersuchungen von Hoffmann et al. (1977) beträgt die Halbwertszeit freien Progesterons fünf bis fünfzehn Minuten, während die Gesamthalbwertszeit mit etwa drei Stunden angegeben wird. Eine hohe Ausscheidungsrate verkürzt die Expositionszeit am Rezeptor, wogegen eine langsamere Ausscheidung die Wirkungszeit verlängert (Clark et al. 1977).

#### 1.1.4 Speicherung im Fettgewebe

1977 ermittelten Hoffmann et al. bei trächtigen Kühen eine Halbwertszeit für Progesteron von drei Stunden gegenüber fünf bis fünfzehn Minuten bei nicht graviden Tieren. Nach der Ovariectomie tragender Tiere wurden während eines Tages unterschiedliche Halbwertszeiten für Progesteron errechnet. Ein vollständiger Abbau des Steroids trat innerhalb von ca. 27 Stunden ein.

Diese Autoren vermuteten, daß die Ursache für die Veränderung der Halbwertszeit eine Umlagerung des Gestagens in andere Gewebe, z. B. in das Fett-

gewebe, ist. Durch Untersuchungen des Fettgewebes wurde festgestellt, daß Konzentrationen bis zu 150ng Progesteron / g Fett bei trächtigen Kühen auftreten können.

Nach Forth et al. (1977) gilt für die Speicherung lipophiler Substanzen im Gewebe, daß erstens eine Verminderung der Wirksamkeit an der Zielzelle eintritt und zweitens eine Verlängerung der Wirkung zu erwarten ist, da durch den Rückstrom aus dem Depot die Konzentration im Blut langsamer absinkt und außerdem die gespeicherte Substanz der Biotransformation entzogen ist. Dabei hängt das Ausmaß der Speicherung sowohl von der Kapazität des Speichers als auch vom Verteilungskoeffizienten ab. Wie lange eine lipophile Substanz gespeichert wird, ist in großem Maße auch von der Eliminationsgeschwindigkeit abhängig.

Da Progesteron neben der Speicherung im Fettgewebe auch einem enterohepatischen Kreislauf unterworfen ist (s. 1.1.2), erklärt sich daraus die Verlängerung der Halbwertszeit beim Abbau eines bestehenden Depots.

Es ist anzunehmen, daß auf Grund des ständigen Fließgleichgewichts zwischen intra- und extrazellulärem Raum (s. 1.2.2) plötzliche Konzentrationserhöhungen des Progesterons im Plasma zwar auch zu einer Konzentrationssteigerung in der Fettzelle führen, aber andererseits die Konzentrationsschwankung im Plasma nachweisbar bleibt, da wegen des bestehenden Fließgleichgewichts keine vollständige Aufnahme des Steroids in die Zelle erfolgen kann.

## 1.2 Hormonwirkung

### 1.2.1 Peptidhormonwirkung in der Zelle

Peptidhormone wie LH und FSH bewirken primär eine Stimulation des Adenylat- Zyklase- Systems, das aus einem Rezeptorprotein und der Adenylat- Zyklase besteht. Durch das Hormon wird das Rezeptormolekül verändert, was zur Aktivierung der Adenylat- Zyklase führt. Sie wandelt ATP in 3, 5-cyclo-AMP um, das als "Second Messenger" in der Zelle fungiert. 3, 5-cyclo- AMP ist in der Lage, verschiedene Enzymsysteme zu aktivieren, z. B. das Phosphorylasesystem (Catt et al. 1980).

Im Falle der Aktivierung des Adenylat- Zyklase- Systems durch LH geht der Anstieg der Phosphorylaseaktivität mit einer Steigerung der Progesteronsynthese einher (Clark et al. 1977).

Das cyclo- AMP wird in der Zelle sehr schnell wieder zu AMP abgebaut, daher ist seine Wirkung nur kurz. Die allgemeine Bedeutung dieses Wirkungsprinzips liegt in den folgenden drei Punkten:

Durch die Einschaltung einer Überträgersubstanz (cyclo- AMP) wird ein Verstärkereffekt hervorgerufen. Verschiedene Zellen und Gewebe können je nach Rezeptorausstattung und cyclo- AMP- empfindlichen Enzymsystemen nach dem gleichen Wirkungsprinzip sehr verschieden durch Hormone beeinflusst werden. Es besteht jedoch die Gefahr des Verlustes der Spezifität für den Fall, daß mehrere Hormone gleichzeitig eine Zelle beeinflussen (Karlson 1974).

Bezüglich der GnRH- Wirkung in der Zelle vertreten Kuhl und Baumann (1981) die Meinung, daß ein funk-

tioneller Zusammenhang zwischen GnRH- bindenden Proteinen der Plasmamembranen und GnRH- inaktivierenden Enzymen besteht. Sie vermuten, daß der GnRH- Rezeptor an die intrazellulären Strukturen der Gonadotropin-produzierenden Zellen des Hypophysenvorderlappens gebunden ist.

### 1.2.2 Steroidhormonwirkung in der Zelle

Voraussetzung für die Wirkung der Steroidhormone in der Zelle ist die Existenz entsprechender Rezeptoren. Baulieu (1975) nimmt an, daß Progesteron durch einfache Diffusion in die Zelle gelangt, da es sich um ein nichtionisches lipophiles Molekül handelt, das durch Lipoproteinmembranen diffundieren kann. Eine Diffusion besteht auch in Zellen, die über keine spezifischen Rezeptoren verfügen; da die Moleküle jedoch nicht gebunden werden, können sie auch wieder ins Plasma austreten. Damit besteht zwischen Plasma und "Nicht- Zielzellen" ein Fließgleichgewicht.

Im Gegensatz zum Peptidhormon wirkt das Steroidhormon direkt am Zellkern. Das Wirkungsprinzip ist als eine Aktivierung bestimmter Genorte zu verstehen. Karlson (1974) nimmt an, daß sich das Hormon ähnlich wie bei einer Antigen- Antikörper- Reaktion mit einem Repressormolekül verbindet, wodurch die bisher blockierte DNS freigelegt wird. Die Transkription von Genteilen erfolgt dort. Die entstehende RNS übersetzt nach dem Transport aus dem Kern ins Zytoplasma an den Ribosomen die genetische Information in Syntheseabläufe. Vermutlich trifft dieser Mechanismus für alle Steroidhormone zu (Karlson 1974, Karg et al. 1979).

Nach O'Malley und Schrader (1976) besteht wahrscheinlich eine quantitative Relation zwischen der zellulären Proteinsynthese (Hormonwirkung) und der intrazellulären Rezeptorzahl, wobei die Anzahl der Rezeptoren je nach physiologischem Status (Zyklusablauf, Alter) variieren kann. Der Aufbau des Hormon- Rezeptor- Komplexes soll dabei ebenfalls die zelluläre Reaktionsfähigkeit gegenüber der Steroidhormonwirkung beeinflussen können.

Edelmann (1975) kommt zu ähnlichen Ergebnissen, zieht jedoch auch die Möglichkeit in Betracht, daß zwar die Regulation der RNS- und Proteinsynthese der dominante Wirkungsweg der Steroide ist, andererseits aber auch eine direkte Wirkung auf Membranen und regulative Enzyme bestehen kann.

Die Induktionswirkung auf den Zellkern und die Aktivierung des Adenylat- Zyklast- Systems müssen sich nicht unbedingt ausschließen; eventuell können Peptid- und Steroidhormone auch über beide Systeme agieren (Karlson 1974).

### 1.2.3 Organotrope Wirkung des Progesterons

Mit der Anbildung des Corpus luteum aus den Granulosaazellen und der damit verbundenen Progesteronfreisetzung ins Blut wird die Sekretionsphase im Uterus eingeleitet, wodurch ein ideales Milieu für die Nidation und Implantation der Morula geschaffen wird.

Obwohl makroskopisch ein "Wachstum" der Uterindrüsen erkennbar ist, nimmt ihre Mitoserate nicht zu.

Die tubulären Uterindrüsen ändern ihre Länge und Größe sowie Form und Funktion durch Sekretion von Glykogen. Diese Funktionsänderung der Zellen beschränkt sich jedoch auf eine nukleare Aktivität, die sich in einer deutlichen Steigerung des RNS- und DNS- Gehaltes des Uterus niederschlägt (Henricks u. Mayer 1977).

Progesteron ruft bei ovariectomierten und mit Östrogenen vorbehandelten Ratten eine Steigerung der Prokollagen- Hydroxylase- Aktivität hervor, die eine Kollagensynthese in Gang bringt. Bei Anwesenheit von Östrogenen ist die Kollagenase- Aktivität gesteigert, während durch Progesteroneinfluß ihre Aktivität deutlich sinkt (Henricks u. Mayer 1977). Es ist anzunehmen, daß Progesteron durch die Steigerung der Hydroxylase- Aktivität wesentlich für die Hypertrophie des Myometriums während der Gravidität verantwortlich ist.

Trams et al. (1973) untersuchten den Östrogen- und Gestageneffekt am Uterus der Ratte. Eine einzige Dosis Östradiol stimulierte die proliferative Aktivität im Rattenendometrium. Gemessen wurde der Einbau von  $^3\text{H}$ - Uridin und  $^3\text{H}$ - Thymidin in die RNS des Myometriums. Progesteron bewirkte eine Hemmung sowohl des  $^3\text{H}$ - Uridin- als auch des  $^3\text{H}$ - Thymidineinbaus in die zelluläre RNS am östrogenisierten Uterus. Sie folgerten daraus, daß Progesteron direkt antagonistisch auf die östrogeninduzierte Proliferationsphase des Uterus wirkt, womit eine Funktionsänderung der Zelle erreicht wird.

1968 verwies Rüsse auf die wesentliche Rolle von Sexualhormonen und vegetativem Nervensystem bezüglich der Regulation von Tonus und Motilität des

Myometriums. Die Verteilung von Alpha- und Betarezeptoren in der Uterusmuskulatur ist dabei von größter Bedeutung, da die Motilität des Uterus über die jeweilige Rezeptordominanz bei gleichbleibender Impulsfrequenz (nervöse Ausschüttung der Katecholamine) beeinflußt wird. Während der Lutealphase und der Gravidität erfolgt unter Progesteroneinfluß eine Induktion der Alpharezeptor- Synthese (Adrenalin, Noradrenalin). Die Synthese der Betarezeptoren (Acetylcholin) überwiegt dagegen während des Östrus und der Geburt. Progesteron wirkt außerdem auch auf die elektrische Aktivität des Myometriums, indem es das Membranpotential in der Sekretionsphase und während der Trächtigkeit steigert. Die Ursache ist eine geringere Natriumleitfähigkeit der Membranen durch den Progesteroneinfluß. Man nimmt an, daß durch die Steigerung des Membranpotentials die Ocytocinwirkung am Uterus aufgehoben wird. Die verminderte Reaktionsfähigkeit des Myometriums während der Gravidität ist demnach im wesentlichen auf den Progesteroneffekt am Uterus zurückzuführen.

Durch Versuche an ovariectomierten Merinoschafen ermittelten 1968 Murdoch und White die Aktivierung von Succinatdehydrogenase (SDH), Glutamat- Oxalat- Dehydrogenase (GOD), saurer Phosphatase, alkalischer Phosphatase, Glucose- 6- phosphatase (G-6-P) sowie die Verminderung der Amylase- Aktivität durch Progesteronwirkung im Endometrium. Östrogene dagegen verminderten den stimulierenden Effekt des Progesterons auf SDH und GOD und senkte die Aktivität der sauren Phosphatase sowie der Lactat- Dehydrogenase (LDH).

Daraus ist ersichtlich, daß Progesteron einerseits direkt antagonistisch auf die Östrogenwirkung reagiert, andererseits aber selbst bestimmte Enzymak-

tivitäten steigert. So ist es erklärlich, daß der Östrogeneinfluß auf den Uterus durch die Anwesenheit des Progesterons weitgehend aufgehoben wird (Scaramuzzi et al. 1971).

### 1.3 Interaktionen zwischen Steroidhormonrezeptoren

#### 1.3.1 Östrogene und ihre Kontrolle über den Progesteronrezeptor

Der Uterus ist relativ unempfindlich gegen eine Progesteronwirkung, wenn er nicht zuvor einer Östrogenbeeinflussung ausgesetzt war. An einem nicht östrogenisierten Uterus kann Progesteron keine Sekretionsphase einleiten (Clark et al. 1977, O'Malley und Schrader 1976)

Progesteron wirkt durch die Bindung an einen spezifischen Rezeptor. Die vorausgegangenen Beobachtungen könnte man durch die Argumentation erklären, daß durch die Östrogenwirkung die Synthese des Progesteronrezeptors stimuliert und dadurch der Uterus die Möglichkeit hat, auf eine Progesteronanwesenheit zu reagieren.

O'Malley und Schrader (1976) berichteten, daß Östrogene im Kükenovidukt die Synthese von Progesteronrezeptoren bewirken. Durch die Stimulation der zytoplasmatischen Progesteronrezeptoren und auch ihrer Neusynthese könnten demnach die Östrogene den Grundstein für die Progesteronbindung, die für die Wirkung des Hormons Voraussetzung ist, legen (Clark et al. 1977).

Clark et al. (1977) vertreten die Vorstellung, daß Östrogene mit ihren Rezeptoren sowohl im Zytoplasma als auch im Nukleus Rezeptor- Östrogen- Komplexe bilden. Sie haben einerseits eine Hyperplasie und Hypertrophie der Zellen durch die östrogene Wirkung zur Folge, andererseits induzieren sie aber auch die Neusynthese von Progesteronrezeptoren, die mit einer steigenden Reaktionsfähigkeit der Zelle auf Progesteron einhergeht.

### 1.3.2 Kontrolle des Östrogenrezeptors durch Progesteron

Da anscheinend weder die initiale Östrogenbindung an den zytoplasmatischen Rezeptor, noch die Translokalisierung des Komplexes zum Kern inhibiert wird, muß der antagonistische Effekt des Progesterons eine andere Ursache haben.

Man könnte diesen Effekt durch eine Interferenz des Progesterons mit der Rezeptorbindung des Östrogens, durch die eine Rezeptornutzung oder -synthese beschränkt wird, erklären. Clark et al. (1977) fanden heraus, daß Progesteron mit der Wiederfreigabe des zytoplasmatischen Östrogenrezeptors interferiert und daß die Reduktion freier Rezeptoren mit einer Verminderung oder Änderung der Uterussensitivität gegenüber den Östrogenen korreliert ist. Nach O'Malley und Schrader (1976) vermindert Progesteron bei Säugetieren die Anzahl der Östrogenrezeptoren und macht dadurch die Zielzelle für die Östrogene weniger sensitiv.

Nach Clark et al. (1977) geht Progesteron mit seinem zytoplasmatischen Rezeptor eine Bindung ein; Rezeptor- Progesteron- Komplexe entstehen im Zytoplasma und im Nukleus. Sie bewirken eine Verminderung der Neusynthese von Östrogenrezeptoren sowie eine Reduktion der Retentionszeit des Rezeptor-Östrogen- Komplexes am Nukleus. Die Folge ist eine sinkende Reaktionsfähigkeit der Zielzelle auf Östrogene. Die allmähliche Minderung der Rezeptorzahl führt zu einer dominierenden Beeinflussung der zellulären Funktionen durch Progesteron. Der sekretorische Uterus entsteht.

#### 1.4 Neuroendokrine Regulation des Zyklus

##### 1.4.1 Hypothalamus- Adenohypophyse

Die Freisetzung des Releaserhormons GnRH, eines Dekapeptids, in den hypothalamischen Kerngebieten (Nucleus infundibularis und Nucleus ventromedialis) erfolgt als Reaktion auf nervöse Reize (Knobil 1981). Es zeigte sich, daß unterschiedliche  $\alpha$ -adrenerge Rezeptorblocker, jedoch keine  $\beta$ - Rezeptorblocker die pulsatile LH- Freisetzung in ovariectomierten Rhesusaffen verhindern können. Es ist anzunehmen, daß diese Drogen direkt auf neuraler Basis agieren und nicht auf die Hypophyse wirken (Knobil 1980).

Freigesetztes GnRH wird über die neurovaskuläre Kette, einer Verbindung zwischen Tractus tubero-infundibularis und den Portalgefäßen, in die

Adenohypophyse transportiert. Aus den basophilen Zellen der Adenohypophyse wird auf den GnRH-Stimulus hin FSH bzw. LH freigesetzt und in die Blutbahn abgegeben.

Die azidophilen Zellen der Adenohypophyse dagegen produzieren unter experimentellen Bedingungen durch Einwirkung des Thyreotropin- Releasing- Hormons Prolaktin.

Die Kontrolle der Releaserhormone erfolgt wahrscheinlich über eine Rückkopplung von der Adenohypophyse aus (short- loop- Feedback); es könnte jedoch auch über extrahypothalamische Strukturen durch Neurotransmitter eine Beeinflussung erfolgen (Knobil 1980).

Soper und Weick (1980) fanden durch Versuche an der Ratte heraus, daß möglicherweise die LH- Sekretion auf zwei verschiedenen Wegen stimuliert werden kann, die voneinander unabhängig sind. Der erste Weg verläuft über den Nucleus arcuatus, während der zweite Weg anscheinend extrahypothalamische Strukturen einschließt und erst dann den Hypothalamus erreicht.

Schillung et al. (1981) kamen zu dem Ergebnis, daß möglicherweise eine Änderung der Sensitivität des Hypophysenvorderlappens gegenüber GnRH durch einen präovulatorischen GnRH- Anstieg bei der Ratte bewirkt werden kann. Deren Folge ist eine verminderte LH- Sekretion.

#### 1.4.2 Hypothalamus- Neurohypophyse

In den Kerngebieten (nuclei supraoptici und nuclei paraventriculares) des Hypothalamus erfolgt die Produktion von Ocytocin und Vasopressin. Diese Peptide werden durch die Axone des Tractus hypothalamo- hypophyseus in die Neurohypophyse abgegeben und dort gesammelt. Als Trägerproteine fungieren dabei die Neurophysine (Karg 1982).

Die Freisetzung von Ocytocin und Vasopressin erfolgt im Gegensatz zu den Gonadotropinen reflektorisch ins Blut.

#### 1.4.3 Hypothalamus- Adenohypophysen- Gonaden-System

Dieses System verfügt über eine gewisse funktionelle Autonomie, die allerdings durch äußere (exterozeptive) und innere (interozeptive) Reize beeinflusst wird. Zu den exterozeptiven Reizen beim Rind gehören die akustischen (Lockrufe), die visuellen (Hell- Dunkel- Rhythmus, Torbogenschema), die olfaktorischen (Pheromone und andere Geruchsstoffe) und die sensorischen Reize (Umgebungstemperatur, Gefühlsempfindungen).

Aschoff (1954) vertritt die Meinung, daß verschiedene exterozeptive Reize wie Hell- Dunkel- Wechsel (Tagesrhythmus), regelmäßige Temperaturschwankungen, Intensitätsschwankungen von Dauergeräuschen und Fütterungszeiten im Zusammenspiel als "Zeitgeber" für physiologische Prozesse wirken.

Exterozeptive Reize gelangen über die Großhirnrinde zu verschiedenen extrahypothalamischen Strukturen und beeinflussen dadurch die Funktion des Hypothalamus.

Interozeptive Reize spiegeln psychische Faktoren wieder und gelangen über das Rückenmark und das vegetative Nervensystem zum ZNS.

Wahrscheinlich setzen extero- und interozeptive Reize Neurotransmitter frei, die eine Ausschüttung von Releaserhormonen beeinflussen können (Soper und Weick 1980). Überträgersubstanzen des sympathischen und parasympathischen Nervensystems werden auch im ZNS freigesetzt; noradrenerge Neurone finden sich hauptsächlich im Bereich des Hypothalamus. Histamin und 5-Hydroxytryptamin werden ebenfalls in bestimmten Regionen des Hypothalamus angereichert. Den Hauptanteil des 5-Hydroxytryptamins (90%) findet man allerdings in den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltrakts, wo es wahrscheinlich an ATP gebunden (wie die anderen Katecholamine auch) vorliegt (Forth et al. 1977).

Eine schematische Darstellung der Fortpflanzungssteuerung beim Rind gibt Abbildung 3.

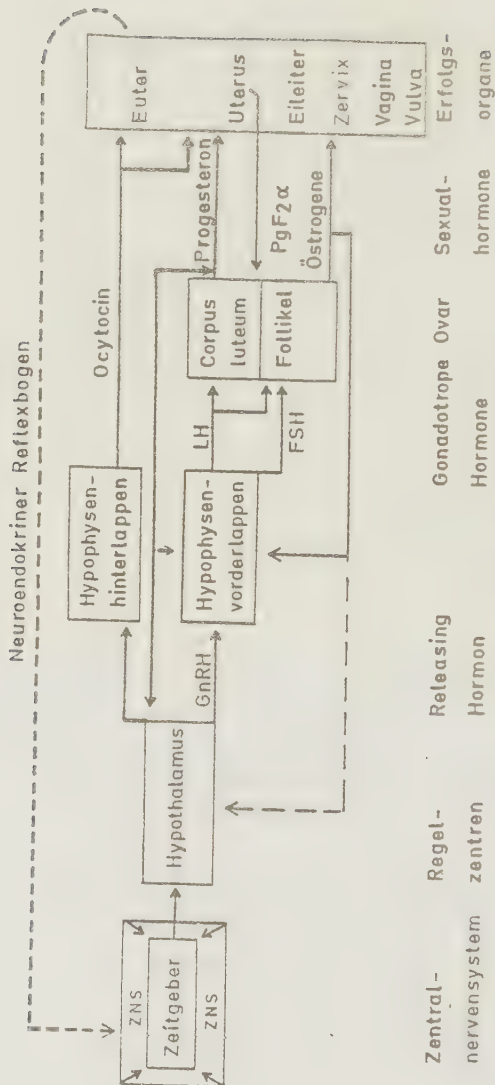


Abbildung 3: Regelkreis der Fortpflanzungssteuerung  
beim geschlechtsreifen Rind  
Karg 1982

## 1.5 Pulsatile Hormonfreisetzung

### 1.5.1 Pulsatile Freisetzung der Gonadotropine

Da nervöse Impulse diskontinuierlich erfolgen, also in bestimmten Zeitabständen, ist anzunehmen, daß GnRH ebenfalls nicht kontinuierlich freigesetzt wird, sondern in einer bestimmten Frequenz, wie sie vom übergeordneten nervösen Regulationszentrum (Zeitgeberzentrum) diktiert wird (Goodman u. Karsch 1981). Pulsatile Freisetzen der Gonadotropine FSH und LH sind demnach als eine Folge der diskontinuierlichen GnRH- Ausschüttung anzusehen, wie sie von verschiedenen Autoren bestätigt wurde (Baird et al. 1975, Knobil 1980, Oerterer 1980, Hutterer 1981, Schallenberger u. Peterson 1982). Das gilt sowohl für das weibliche als auch das männliche Tier.

1975 führten Dowd et al. einen "in- vitro- Versuch" durch, in dem sie perfundierten Rattenhypophysen in Intervallen hypothalamische Extrakte zuführten. Sie stellten fest, daß nach der Zufuhr von hypothalamischen Extrakten die FSH- und LH- Sekretion zunächst prompt zunahm und anschließend wieder abflachte. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Kao et al. (1975), was die oben zitierte Auffassung über die pulsatile Freisetzung der Gonadotropine unterstützt.

### 1.5.2 Gonadotropinausschüttung- Freisetzung von Sexualhormonen.

Da die Gonadotropine offensichtlich auf Grund der pulsatilen Einwirkung des Releasing- Systems auf den HVL diskontinuierlich in die Blutbahn abgegeben werden, erhebt sich die Frage, ob die organotropen Hormone (Östrogene, Progesteron, Testosteron) tatsächlich kontinuierlich freigesetzt werden, wie man es bisher für die Östrogene und Progesteron voraussetzte. Lincoln u. Short (1980) und Schams et al. (1978) wiesen bereits nach, daß die pulsatile Freisetzung der Gonadotropine als Ursache für Kurzzeitschwankungen der Testosteronsekretion anzusehen ist.

1970 führten Mills und Morrissette einen Versuch durch, in dem Ovarien mit gerinnungsunfähigem Blut (Citrat- Zusatz) perfundiert wurden. Sie stellten fest, daß vor der Zugabe von LH (bis 1ng/ml) die durchschnittlichen Progesteronkonzentrationen im Plasma (3,2- 5,5 ng/min) weit niedriger lagen als nach der Zugabe von LH (5,4- 9,0 ng/min), wobei die Analysen an den folgenden 100ml perfundierten Bluts durchgeführt wurden.

1974 analysierten Thibier u. Saumande Progesteron und 17 $\alpha$ - Hydroxyprogesteron im Blut weiblicher Rinder. Die Blutentnahmen erfolgten dabei zweistündlich über jeweils fünf Tage. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß sowohl Progesteron als auch 17 $\alpha$ - Dihydroprogesteron vor allem während der Lutealphase hohe Kurzzeitschwankungen zeigten (ca. 3,0 ng/ml). Auf Grund der beschriebenen Versuche lassen sich pulsähnliche Schwankungen des Progesterons im peripheren Plasma (in vivo) erwarten.

## 1.6 Der Brunstzyklus beim Rind

### 1.6.1 Hormonprofile

Nach erfolgter Ovulation kommt es zu wesentlichen Umbauvorgängen am Ovar. Unter dem Einfluß der LH-Sekretion erfolgt die Umbildung der Granulosazellen des verbleibenden Follikelepithels in das Corpus luteum.

Mit der stark ansteigenden Progesteronproduktion an den Tagen 4 und 5 sinkt der durchschnittliche LH-Plasmaspiegel auf niedrigere Werte ab, wobei die Pulsfrequenz des LH abnimmt und die Amplitude des LH-Pulses größer wird (Oerterer 1980).

Die Progesteronfreisetzung nimmt (von etwa 0,5-14,5 ng/ml Plasma) mit dem wachsenden Corpus luteum bis zum Tag 10 zu und bewegt sich anschließend bis ca. Tag 17/18 auf einem Plateau, das dann von einem steilen Abfall bis Tag 20 gefolgt wird (Schams et al. 1977). Mit der einsetzenden Luteolyse beginnt eine zunehmende LH-Sekretion, die im präovulatorischen LH-Anstieg gipfelt, wobei die Pulsfrequenz bis etwa 1 Puls pro 50 Minuten zunimmt und die Amplitudenhöhe bis zum LH-Gipfel ständig abnimmt (Oerterer 1980, Hutterer 1981).

Der Zeitpunkt des präovulatorischen LH-Gipfels liegt etwa  $25,7 \pm 6,9$  Std. vor der Ovulation und dauert  $7,4 \pm 2,6$  Std. an (Schams et al. 1977).

Eine ansteigende Östrogenproduktion ist etwa ab Tag 17 festzustellen; sie nimmt mit der Follikelreifung weiter zu. Zum Zeitpunkt des LH-Gipfels erreicht sie ihren Höhepunkt, nach der Ovulation fällt sie ab.

FSH zeigt wellenartige Ausschüttungen mit Höhepunkten am Tag 4, 8, 12- 13, 17, 18 und 20. Es bestehen Parallelen zwischen den FSH- Ausschüttungen und auftretendem Follikelwachstum (Schams et al. 1977). Rassespezifische Unterschiede bezüglich Zykluslänge und Dauer des Proöstrus bei Angus- und Hereford-Rindern stellten Lamond et al. (1971) fest.

#### 1.6.2 Rückkopplungsmechanismen

Jede Stimulation einer Hormonsynthese durch ein übergeordnetes Hormon bezeichnet man als Mitkopplung oder positives Feedback. Die Hemmung einer übergeordneten Hormonwirkung durch ein peripheres Hormon dagegen nennt man Rückkopplung oder negatives Feedback. Diese Rückkopplungsmechanismen bilden die Grundlage der Kontrolle von Gonadenfunktionen durch das übergeordnete System (Karg 1982). Im Anschluß an die Ovulation wird durch LH- Einfluß die Bildung spezifischer Gonadotropin- Rezeptoren in den Granulosazellen induziert, wodurch erst die Steroid- Biosynthese und damit die Progesteronsekretion möglich wird. Die Induktion der Progesteronsekretion durch LH (Mitkopplung) wurde auch bei der Frau nachgewiesen. Sowohl hCG- als auch LH- Gaben führten zur Zyklusverlängerung von 6 bis 9 Tagen. Bei der Kuh bewirkt LH ebenfalls eine Zyklusverlängerung (Hanson et al. 1971). Eine vollständige Unterdrückung des Zyklus beim Rind konnten andere Autoren durch tägliche Progesteroninjektionen erreichen, was durch den Rückkopplungseffekt auf das übergeordnete Hormonsystem zu erklä-

ren ist (Henricks u. Mayer 1977).

1977 bestätigten Convey et al. durch ihre Versuche am Rind, daß Progesteron eine negative Feedback-Kontrolle auf die LH- Freisetzung ausübt.

Man fand heraus, daß mit dem Wachstum des Corpus luteum und dem damit verbundenen Anstieg der Progesteronkonzentration im Plasma der LH- Basalspiegel abnimmt, die Pulsamplitude jedoch im Gegensatz zur Pulsfrequenz zunimmt (Oerterer 1980).

Harms und Malven (1969) stellten beim Rind fest, daß Progesteroninjektionen während der Lutealphase das Gewicht des Corpus luteum reduzieren. Da LH die Progesteronproduktion in der Zelle stimuliert (s. 1.1.1), ist die negative Feedbackwirkung des exogenen Progesterons als Ursache für die Regression des Corpus luteum anzusehen. Dabei bleibt offen, ob Progesteron direkt auf den Hypothalamus oder auf die Hypophyse Einfluß nimmt. Der genaue zentrale Angriffspunkt des Progesterons ist bis heute unbekannt; möglicherweise wirkt das Steroid sowohl am Hypothalamus als auch im HVL auf die GnRH- bzw. LH- Freisetzung (oder Produktion) ein (Knobil 1980).

Durch Untersuchungen am Rhesusaffen kam man zu der Annahme, daß der Nucleus arcuatus eine Funktion als Vermittler zwischen dem ZNS und der Hypophyse erfüllt, indem er neurale Signale in endokrine Signale transformiert. Anscheinend übersetzt er die Frequenz, also die Sprache des neuralen Systems, in Änderungen zirkulierender LH- und FSH- Konzentrationen (Knobil 1980).

Versuche an Schafböcken führten zu der Erkenntnis, daß die Frequenzänderung der Gonadotropinsekretion

wahrscheinlich das Regulationsprinzip des Hypothalamus für den Saisonzyklus des Schafbockes darstellt. (Lincoln u. Short 1980).

Es liegt nahe, auch an eine Regulation der LH-Freisetzung beim Rind durch die Veränderung der Pulsfrequenz, die ihren Schrittmacher im Hypothalamus hat, zu denken (Karg 1982).

Während der Corpus- luteum- Phase lassen sich bei der Kuh wellenartige Freisetzen von FSH nachweisen. Die FSH- Schübe gehen mit einem Follikelwachstum einher, das aber unter dem Einfluß des Progesterons nicht zum Graaf'schen Follikel führt, sondern zur Atresie. Erst eine Follikelstimulation, die zur Zeit der Regression des Corpus luteum stattfindet, führt zur Entwicklung des Graaf'schen Follikels.

Das unterschiedliche Verhalten von FSH und LH während des Zyklus verleitet zu der Annahme, daß möglicherweise verschiedene Freisetzungsmechanismen für diese Gonadotropine existieren. Dabei stellte man sich einen spezifischen Hemmfaktor wie "Inhibin" vor, der die FSH- Freisetzung aus der Hypophyse modulieren könnte, während die LH- Sekretion davon unbeeinflusst bleibt (Schams et al. 1977, Roche u. Ireland 1981).

Versuche am Rind zeigten, daß durch Progesteronimplantate keine FSH- Beeinflussung erkennbar war, obwohl sich der LH- Plasmaspiegel veränderte. Man folgerte daraus, daß für LH und FSH verschiedene Feedback- Mechanismen existieren (Roche u. Ireland 1981)

Findet keine Kontaktnahme der Morula mit dem Uterus statt, signalisiert das Endometrium durch Frei-

setzung des luteolytischen Faktors die Luteolyse. Man nimmt an, daß dabei  $\text{PGF}_{2\alpha}$  über einen Counter-current- Mechanismus, das heißt Austausch von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  zwischen Uterusvenen- und Ovarialarterienblut, ins Ovar gelangt und dort die Luteolyse auslöst. Der Transport des  $\text{PGF}_{2\alpha}$  über den Körperkreislauf würde in der Lunge zu dessen Inaktivierung führen ( McCracken et al. 1970).

Mit der Luteolyse sinkt auch die Progesteronkonzentration im Plasma auf ein sehr niedriges Niveau (  $< 0,5 \text{ ng/ml}$ ). Damit entfällt auch der negative Feedback durch das Progesteron auf den Hypothalamus bzw. Hypophysenvorderlappen: die basale LH-Sekretion steigt an, die Frequenz der LH- Pulse nimmt stark zu, während ihre Amplituden geringer werden (Oerterer 1980).

Beim Schaf stellt die LH- Pulsfrequenz offenbar die Determinante für die Follikelentwicklung dar; demnach leiten hohe LH- Frequenzen eine Ovulation ein (Goodman u. Karsch 1980). Hutterer (1981) stellte fest, daß dies auch für das Rind zutrifft.

Durch den Progesteronabfall im Plasma unterliegt das "Zeitgeberzentrum" der endogenen Periodizität, woraus hochfrequente LH- Pulse resultieren, die in der präovulatorischen LH- Ausschüttung gipfeln. Nach Goodman u. Karsch (1980) beeinflussen wahrscheinlich dabei Östrogene und Progesteron beim Schaf verschiedene Komponenten der LH- Ausschüttung, indem ein Progesteronabfall die LH- Frequenz erhöht und die Östrogene die Pulsamplitude senken.

Yamaji et al. beschrieben 1972 beim ovariectomierten Rhesusaffen eine Erhöhung der Amplitude sowie

eine Verminderung der Frequenz von LH- Ausschüttungen durch den Einfluß von  $17\beta$ - Östradiol. Baird et al. (1968) zeigten, daß beim Schaf (auto-transplantiertes Ovar) die maximale Sekretion von  $17\beta$ - Östradiol zu einem Zeitpunkt der minimalen Progesteronsekretionsrate erscheint.

Für den präovulatorischen LH- Gipfel ist jedoch die endogene Periodizität von Pulsintervallen nicht allein ausschlaggebend, sondern es bedarf zusätzlich eines hohen Östrogenspiegels, um den Gipfel aufzubauen. Voraussetzung für die hohe Östrogenkonzentration im Plasma ist jedoch ein entsprechender FSH- Stimulus. Durch Versuche an Rattenovarien wurde gezeigt, daß FSH einen signifikanten Anstieg von  $17\beta$ - Östradiol bewirkt. Man folgerte daraus, daß FSH die  $17\beta$ - Östradiolbiosynthese reguliert, und zwar über einen speziellen Stimulus im aromatischen Enzymsystem, der LH- unabhängig ist (Moon et al. 1975).

1969 kamen Radford et al. zu dem Ergebnis, daß beim ovariectomierten Schaf der präovulatorische LH- Anstieg als eine Folge östrogenen Stimulations anzusehen ist.

Beck und Convey wiesen 1977 nach, daß  $17\beta$ - Östradiol einen positiven Feedback- Effekt auf die LH- Sekretion beim Rind ausübt. Sie vermuteten als Ursache eine erhöhte Antwortfähigkeit des HVL auf GnRH durch  $17\beta$ - Östradiolwirkung, die entweder durch eine steigende Anzahl von GnRH- Rezeptoren oder eine erhöhte GnRH- Rezeptoraffinität entsteht. Versuche am Schaf zeigten, daß Östradiolbenzoat, das kurz nach einem Progesteronabfall gegeben wurde, zwei Effekte verursachte: 2- 12 Std. p. i.

folgte eine LH- Depression, 12- 24 Std. p. i. wurde sie von einem steilen LH- Anstieg gefolgt, der zeitlich mit dem Duldungsreflex übereinstimmte. Wurde Östradiol zusammen mit Progesteron verabreicht, konnte weder ein LH- Anstieg noch eine Duldung beobachtet werden. Diese Ergebnisse verdeutlichen den blockierenden Effekt des Progesterons auf die Östrogenwirkung (Scaramuzzi et al. 1971). Bei Experimenten an Kalbinnen kam man zu dem Ergebnis, daß Östradiol zwar einen zweiphasischen Effekt auf die LH- Freisetzung ausübte, jedoch war bei gleichzeitiger exogener Progesteronanwesenheit (Implantat) kein Einfluß auf die Östradiolwirkung nachzuweisen. Nach Injektion von GnRH erschienen bei Anwesenheit des Progesteronimplantates nur zum Teil LH- Gipfel. Bei gleichzeitiger Östrogenapplikation trat eine Steigerung der LH- Sekretion ein (Hausler u. Malven 1976). Short et al. (1979) kamen beim Rind zu anderen Versuchsergebnissen. Exogenes Progesteron in Form von Implantaten konnte den durch Östrogene induzierten LH- Puls nicht verhindern, da offensichtlich die damit erzielte Progesteronkonzentration im Blutplasma zu niedrig war. Bei Anwesenheit eines Corpus luteum bzw. einer Progesteronkonzentration im Plasma von mindestens 1 ng/ml konnte Östradiol keine LH- Freisetzung bewirken. Der Autor weist auf die Bedeutung des Progesteronspiegels im Plasma hin (Short et al. 1979, Baird et al. 1968). Andere Untersuchungsergebnisse kreisen die notwendige Östrogenkonzentration, die beim Affen für den LH- Anstieg verantwortlich ist, ein. Demnach müssen 100 pg Östrogen pro ml Plasma über 36 Stunden vor-

handen sein, damit ein präovulatorischer LH- peak induziert werden kann (Knobil 1980).

Nachdem bei der Ratte ein präovulatorischer Progesteronanstieg beschrieben wurde (z. B. Barraclough et al. 1971) erhob sich die Frage, ob dies auch für das Rind zutrifft. Ein solcher Anstieg konnte von vielen Autoren nicht nachgewiesen werden (Kazama u. Hansel 1970, Pope et al. 1969, Donaldson et al. 1970, Thibier und Saumande 1974, Hoffmann u. Hamburger 1973). Es wurde deutlich, daß beim Rind kein signifikanter LH- Anstieg zustande kommen kann, so lange die Progesteronkonzentration im Plasma nicht unter 1 ng/ml sinkt (Schams et al. 1977, Snook et al. 1971, Oerterer 1980).

Bei Anwesenheit hoher Progesteronspiegel wird jedoch ein gewisser LH- Spiegel als Notwendigkeit angesehen, um ein funktionsfähiges Corpus luteum zu erhalten.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Versuchstiere, Blutproben und Zyklusfeststellung

Die untersuchten Blutplasma-proben stammten von sechs Kalbinnen der Rasse "Deutsches Braunvieh" im Alter von 18- 23 Monaten, die auf der Versuchsstation "Veitshof" der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Weißenstephan gehalten wurden.

Im Rahmen einer Diplomarbeit (Oerterer 1980) erfolgte bei den Tieren während eines Brunstzyklus alle drei bis fünf Tage eine zwölfstündige Blutentnahme mittels eines Dauerkatheters in der Vena jugularis. In zwanzigminütigen Abständen erfolgte eine Entnahme von jeweils 10 ml Blut in mit Ammoniumheparinat beschichtete Einmalzentrifugenröhrchen, die anschließend zur Plasmagewinnung 30 min. zentrifugiert wurden. Das gewonnene Untersuchungsmaterial lagerte anschließend bei - 20°C.

Bei einigen Tieren mußte die Blutentnahme unterbrochen werden, da sich Fibrinpfpfen im Dauerkatheter gebildet hatten. Dies führte teilweise zu Probenausfällen.

Auf Grund der Untersuchungsbefunde der Ovarien, der vorausgegangenen Brunstbeobachtungen und der Bestimmung der jeweiligen Progesteronkonzentrationen im peripheren Plasma vor den Versuchstagen konnte jedem Versuchstier ein bestimmter Zyklusstand zugeordnet werden. Da sich herausstellte, daß die einzelnen Tiere individuelle Unterschiede bezüglich ihrer Zykluslänge aufwiesen, erfolgte die Orientierung nach Tagen vor und nach der Brunst.

## 2.2 Radioimmunologische Progesteronbestimmung

### 2.2.1 Materialien

#### Lösungsmittel und Glaswaren

Die Destillation von Petroläther (Merck Best- Nr. 910) erfolgte vor der Extraktion der Plasmaproben. Die Fraktionen mit einem Siedebereich von  $54^{\circ}\text{C}$  bis  $70^{\circ}\text{C}$  wurden gesammelt (Dichte bei  $20^{\circ}\text{C}$  0,660 bei  $40^{\circ}\text{C}$  0,663).

Methanol (Merck Best- Nr. 6009) wurde ebenfalls vor Gebrauch destilliert.

Alle Glaswaren (Extraktionsgläser, Zentrifugengläser) unterzog man vor der einmaligen Benutzung einer Reinigung mit destilliertem Wasser. Anschließend erfolgte die Trocknung mit Heißluft im Trockenschrank.

#### Pufferlösungen

##### Phosphatpuffer pH 7,2

2,686 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Kalium- di- hydrogenphosphat, Merck Best.- Nr. 4873), 8,356 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (di- Natriumhydrogenphosphat, Merck Best- Nr. 6580) und 0,352 g  $\text{NaN}_3$  (Natriumazid, Merck Best- Nr. 6688) wurden in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst und der pH- Wert eingestellt.

##### Rinderserumalbuminpuffer pH 7,2

Durch zusätzliches Lösen von 1,000 g RSA (Rinderserumalbumin, Serva Best- Nr. 11930) in 1000 ml Phosphatpuffer entstand der RSA- Puffer. Der pH- Wert wurde auch hier genau überprüft.

## Adsorbens

Aktivkohle- Suspension 0,2%ig

2,0 g Aktivkohle (Norit A, Partikelgröße 4- 7 $\mu$ ,  
wasserlösliche Anteile unter 0,1%, Serva Best- Nr.  
30890) und 0,2 g Dextran (Dextran 60, pharm. pyro-  
genfrei, Molekulargewicht ca. 60.000- 90.000, Serva  
Best- Nr. 18680) wurden in 1000 ml destilliertem  
Wasser gelöst, bei +4°C aufbewahrt und vor Gebrauch  
20 Minuten mittels eines Magnetrührers im Eisbad  
homogenisiert.

## Radioaktiv markiertes Progesteron

Gereinigtes und in Methanol gelöstes 1, 2, 6, 7-<sup>3</sup>H-  
Progesteron (New England Nuclear, Dreieich) mit  
einer spezifischen Aktivität von 97,0 Ci/mmol, wur-  
de durch Belüftung mit Stickstoff niedergetrock-  
net und für die Verwendung im Test mit Phosphat-  
pufferlösung verdünnt. Eine Wiederfindung (s. unten)  
von 10.000- 12.000 Impulsen pro Minute für 100 $\mu$ l  
der Verdünnung war erwünscht.

## Nicht radioaktiv markiertes Progesteron

Reines Progesteron (Steraloids, Paesel, Frankfurt)  
diente zur Herstellung von Vergleichsproben bestimm-  
ter Konzentrationen (s. unten), z. B. von Stammlö-  
sungen, wie sie für die Eichkurve benötigt wurden.

## Scintillator

Je 10 ml Scintillatorflüssigkeit (Aqua luma ,  
Baker), in Kunststoffzählgläser abgefüllt, wurden  
für die Ermittlung der Radioaktivität einer Probe  
benötigt.

### Gewinnung der Antikörper (nach Hoffmann, 1972)

Als Ausgangssubstanz des Antigens diente 11 $\alpha$ - OH- Progesteron. Durch die Bildung des Hemisuccinates und Kopplung an Rinder- Serum- Albumin erzielte man ein Steroid- Protein- Konjugat, das anschließend gefriergetrocknet wurde.

Die Immunisierung von Kaninchen erfolgte durch je zwei subkutane und intramuskuläre Injektionsstellen. Verabreicht wurden 1- 2 mg Antigen, gelöst in destilliertem Wasser und 0,5ml Freund'schem Adjuvans (Difco Laboratories, Detroit).

Nachimmunisierungen fanden nach drei oder vier Wochen statt. Nach einer Woche konnte die erste Blutentnahme (V. Auricularis) erfolgen. Nach der Gewinnung lagerten die Antiseren ohne weitere Zusätze bzw. Reinigungsverfahren bis zum Gebrauch bei - 18°C.

### Antiserum

Verwendung fand das Antiserum P<sub>2</sub>/ XII vom Kaninchen, das in einer 0,003%igen Verdünnung mit Rinderserumalbuminpuffer in einer Menge von 500 $\mu$ l jeder Probe zugesetzt wurde.

Nachgewiesene Kreuzreaktionen bestanden mit

|                                  |             |
|----------------------------------|-------------|
| 17 $\alpha$ - Hydroxyprogesteron | (0,75%),    |
| Corticosteron                    | (0,75%) und |
| Desoxycorticosteron              | (3,37%).    |

Alle anderen getesteten Substanzen (Östrogene: Östron, Östradiol; Androgene: Testosteron, Androstendion, Trenbolon; Cortisol) wiesen eine Kreuzreaktion unter 0,2% auf.

Die Berechnung der Kreuzreaktionen erfolgte nach Abraham et al. (1970).

50% Bindung bestanden bei 0,001%iger Verdünnung, da jedoch eine höhere Bindungskapazität erwünscht war, fand eine 0,003%ige Gebrauchsverdünnung im Test Verwendung.

### 2.2.2 Untersuchungsverfahren

Das von Hoffmann, Kyrein und Ender (1973) erarbeitete Bestimmungsverfahren für Progesteron diente zur Ermittlung der Meßdaten.

#### Testansatz

Die zur Untersuchung vorgesehenen Rinderplasmaproben lagerten bei  $-20^{\circ}\text{C}$ . Zur Progesteronbestimmung wurden sie zunächst bei  $37,5^{\circ}\text{C}$  im Wasserbad aufgetaut, durch Schütteln homogenisiert und von Fibrinniederschlägen befreit.

Die Untersuchungen erfolgten jeweils im Doppelan-  
satz, wobei Plasmamengen von 50  $\mu\text{l}$  bis 500  $\mu\text{l}$ , je nach der zu erwartenden Progesteronkonzentration, Verwendung fanden.

In einem Vorversuch ermittelte man die durchschnittliche Progesteronkonzentration in je zwei Proben eines Versuchstages.

### Extraktion

Die Plasmaproben wurden mittels geeichter Pipettierhilfen (Eppendorff- Pipetten 50- 500  $\mu$ l) in Extraktionsgläser mit Schraubverschluß pipettiert und mit jeweils 5 ml destilliertem Petroläther versehen. Die Extraktion erfolgte bei Umgebungstemperatur auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Geschwindigkeit während 30 min. Um eine anschließende optimale Trennung der zwei Phasen (Petroläther und Plasma) zu erreichen, lagerten die Proben anschließend bei  $- 20^{\circ}\text{C}$  so lange, bis der Überstand, Petroläther und in ihm gelöstes Progesteron, wegen des gefrorenen Plasmas in Zentrifugenröhrchen dekantiert werden konnte. Im "Vakuumtrockenschrank" verdampfte bei  $40^{\circ}\text{C}$  der Petroläther. Danach erfolgte die Lösung der verbliebenen Substanzen in 0,1 ml Phosphatpuffer.

### Protein- Bindungs- Reaktion

Den extrahierten Proben sowie vorbereiteten Zentrifugengläsern, die jeweils 0,1 ml gepufferter Progesteron- Standard- Lösung verschiedener Konzentrationen (Eichkurve) enthielten, wurden jeweils 0,1 ml  $^3\text{H}$ - markiertes Progesteron, in Phosphatpuffer gelöst, zugegeben. Anschließend versah man jede Probe mit 0,5 ml Antiserum- Verdünnung (0,003%ig). Die Homogenisierung aller Proben mit Hilfe eines Schüttlers (Vortex) war von Hand vorzunehmen. Im Wasserbad erfolgte bei  $37,5^{\circ}\text{C}$  mit einer Unterbrechung, in der die Proben noch einmal geschüttelt wurden, 30 min lang eine Inkubation. Die Unterbrechung der Bindungsreaktion erreichte man durch Lagerung der Proben für mindestens eine Stunde im Eisbad.

Die Trennung von Antiserum- gebundenem und freiem Steroid war durch die Zugabe von jeweils 0,5 ml einer Dextran- Kohle- Suspension (durch 20 minütiges Rühren gut homogenisiert) und anschließender Zentrifugierung (2000 Umdrehungen pro Minute, 15 Minuten Dauer) erreichbar. Die von Dextran ummantelte Kohle sedimentierte und der Überstand, der die gebundene Fraktion enthielt (antikörpergebundenes Progesteron) wurde in ein mit 10 ml Scintillator (s. unten) gefülltes Zählglas dekantiert.

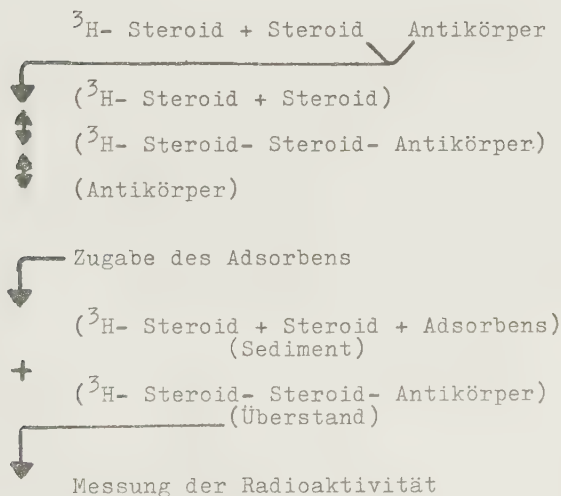


Abb. 4

Prinzip des Radioimmunotests nach Hoffmann, 1972

## Messung der Radioaktivität

Die Messung der  $\beta$ - Strahlung des markierten Progesterons erfolgt mittels eines Flüssigkeits- Szintillations- Zählers. Da die Reichweite der  $\beta$ - Strahlen (in der Luft ca. 5mm) sehr gering ist, muß die Messung anhand der Energieübertragung, die zunächst auf das Lösungsmittel und von dort auf das Szintillatormolekül stattfindet, durchgeführt werden.

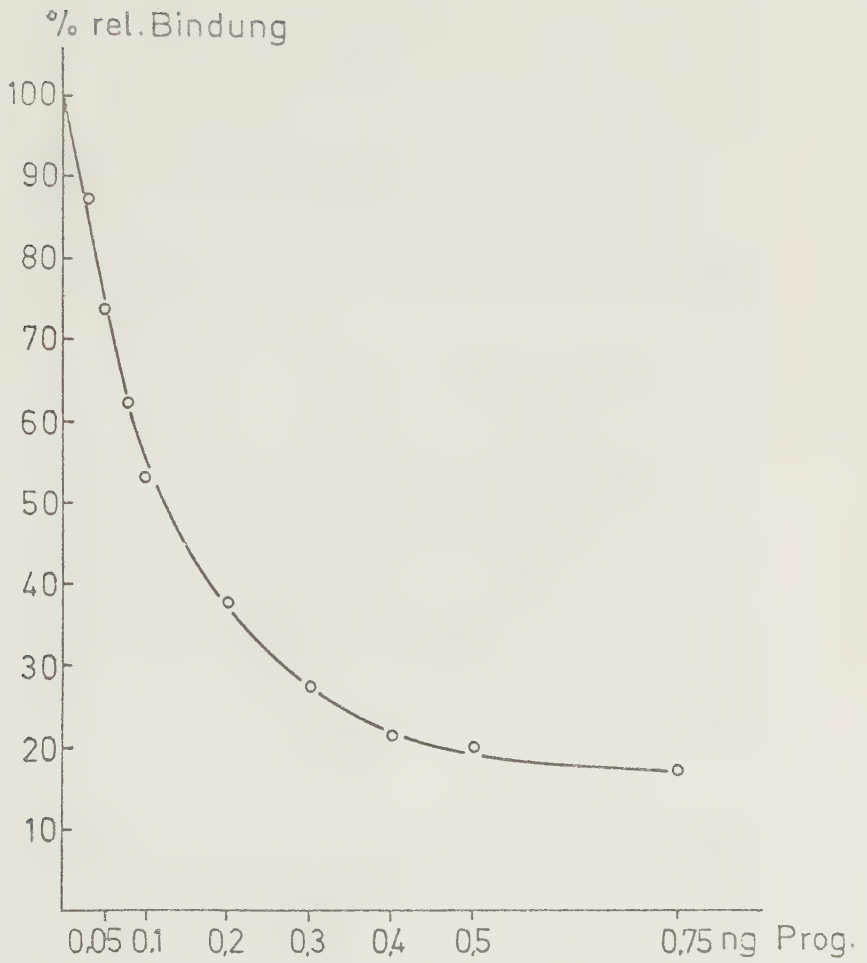
Einerseits wird dadurch ein Verstärkereffekt hervorgerufen, andererseits bewirkt die auf das Szintillatormolekül übertragene Energie eine Freisetzung von Lichtquanten, die mit einer Photokathode gemessen wird.

Die Impulsrate pro Minute (cpm) einer bestimmten Impulshöhe (Impulshöhenanalysator) ist dabei direkt proportional der vorhandenen  $\beta$ - Strahlung.

Bei einer Zähldauer von maximal 10 Minuten wird jede Probe zweimal auf ihre Radioaktivität untersucht.

Die mitgeführte Eichkurve für Progesteron, ausgedrückt in counts per minute (cpm) gebundenen Progesterons bzw. relativer Bindungskapazität (s. unten), ermöglicht anhand der gezählten cpm- Zahl eine Bestimmung der ng Progesteron in jeder Probe.

Abbildung 5 stellt eine Eichkurve dar.



Aufgabe 5

Die Eichkurve

### Eichkurve

Die Lösung von nicht markiertem Progesteron in Phosphatpuffer erfolgte zur Herstellung von Stammverdünnungen, die 0,05 ng/100 $\mu$ l, 0,08 ng/100 $\mu$ l, 0,1 ng/100 $\mu$ l, 0,2 ng/100 $\mu$ l, 0,3 ng/100 $\mu$ l, 0,4 ng/100 $\mu$ l, 0,5 ng/100 $\mu$ l und 0,75 ng/100 $\mu$ l enthielten. Je 100 $\mu$ l der genannten Konzentrationen wurden als Eichpunkte bei jedem Test im Doppelansatz mitgeführt. Die weitere Behandlung entsprach der bereits extrahierter Proben.

### Bindungskapazität des Antiserums

Für die Ermittlung der Gesamtaktivität (GA) wurden 100 $\mu$ l Phosphatpuffer wie eine Probe nach der Extraktion behandelt, jedoch später nicht mit einem Adsorbens, sondern mit RSA- Puffer versetzt. Die absolute Bindung (0- Wert) ergab sich aus der Analyse von 100 $\mu$ l Phosphatpufferlösung, die wie eine biologische Probe nach der Extraktion im Test mitgeführt wurde. Die absolute Bindungskapazität entsprach durchschnittlich 74,0%.

### Wiederfindung

Für die Errechnung der absoluten Wiederfindung (100%- Wert) wurden 100 l  $^3\text{H}$ - Progesteron- Phosphatpuffer- Lösung mit 10 ml Scintillatorflüssig-

keit (Aqua luma von Baker) versetzt und die vom Flüssigkeits- Szintillations- Zähler angezeigten Impulse pro Minute ermittelt. Sie entsprachen einer 100%igen Wiederfindung.

Der prozentuale Anteil der Wiederfindung (relative Wiederfindung) radioaktiv markierten Progesterons aus biologischen Proben ergab sich aus der Zugabe von  $100\mu\text{l}$   $^3\text{H}$ - Progesteron- Phosphatpufferlösung zu einer Plasmaprobe, in der kein Progesteron nachgewiesen werden konnte. Freies Steroid im Bullenplasma wurde durch Zugabe eines Adsorbens (Dextran-Kohle- Suspension) entfernt. Das verwendete Aliquot der Plasmaprobe war dabei mit dem im Test benutzten identisch.

Anhand der gezählten Impulse pro Minute erfolgte die Ermittlung der Bindung radioaktiv markierten Progesterons im Plasma, die mit dem durch Petroläther nicht gelösten Anteil des Progesterons aus dem Plasma biologischer Proben gleichgesetzt wurde. Hierdurch konnte ein Korrekturfaktor errechnet werden.

#### Vergleichsproben

Als Vergleichsproben dienten Plasmaproben mit Konzentrationen von  $0,1\text{ ng/ }100\mu\text{l}$ ;  $0,2\text{ ng/ }100\mu\text{l}$ ;  $0,25\text{ ng/ }100\mu\text{l}$ ;  $0,3\text{ ng/ }100\mu\text{l}$  und  $0,5\text{ ng/ }100\mu\text{l}$  (exogenes Progesteron) bzw. Plasmaproben von Schafen mit bekannter Progesteronkonzentration (endogenes Progesteron). Die Vergleichsproben wurden wie biologische Proben behandelt.

### Plasmaleerwert

Eine dem Testaliquot entsprechende Menge von progesteronfreiem Plasma wurde wie eine zu testende biologische Probe behandelt, was für die Ermittlung der Spezifität (Kreuzreaktionen zu anderen Steroiden) von Bedeutung war. Der errechnete Plasmaleerwert lag zwischen 0,00 und 0,1 ng/ml.

### Reagentienleerwert

Um eine Verfälschung des Testergebnisses durch Umweltkontaminationen auszuschließen, wurden 5 ml Petroläther dem üblichen Analysengang unterzogen. Durchschnittlich ergab sich ein Reagentienleerwert von 0,1 ng/ml.

## 2.2.3 Gültigkeitskriterien

Die Spezifität des Verfahrens beruht im wesentlichen auf den Bindungseigenschaften des Antiserums. Immunisierungsversuche am Kaninchen ergaben, daß starke individuelle Unterschiede in der Immunitätsbildung bei den Tieren bestehen. Durch die Bestimmung der Bindungskapazität und die Überprüfung der Kreuzreaktionen wird die Spezifität der einzelnen Antisera bestimmt (s. 2.2.1).

Die Empfindlichkeit wurde anhand des Reagentienleerwertes ermittelt, dieser lag durchschnittlich bei etwa 0,1 ng/ml Progesteron.

Die Reproduzierbarkeit resultierte aus Mehrfachbestimmungen von Proben mit bekannter Progesteronkonzentration in zeitlichen Abständen (s. Tabelle 1). Dabei ergab sich, daß innerhalb von vier Monaten bei den biologischen Proben Änderungen der Progesteronkonzentrationen auftraten, die bis zu 0,08 ng Progesteron pro Probe betrugen. Je nach Aliquotfaktor ergaben sich dann für die Progesteronkonzentrationen pro ml andere Werte.

Die Genauigkeit ergab sich aus der Bestimmung einer bekannten Menge nicht markierten Progesterons im Bullenplasma bzw. aus der wiederholten Bestimmung der Progesteronkonzentration von bekannten biologischen Proben.

Sie lag zwischen  $\pm 0,02$  und  $\pm 0,07$  ng Progesteron pro biologischer Probe. Je nach Aliquotfaktor (Faktor 2 für  $500 \mu\text{l}$ , Faktor  $3,3$  für  $300 \mu\text{l}$ , Faktor 5 für  $200 \mu\text{l}$ , Faktor 10 für  $100 \mu\text{l}$ , Faktor 20 für  $50 \mu\text{l}$ ) ergaben sich dann für die Genauigkeit pro ml Plasma andere Werte (s. Tabelle 1).

Tabelle 1a  
 Analysenergebnisse der Kontrollproben, exogenes  
 Progesteron

| 1981  | Al. 100 $\mu$ l |            |            |            |            | relative  |           |
|-------|-----------------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
|       | 0,1ng           | 0,2ng      | 0,25ng     | 0,3ng      | 0,5ng      | 0,03      | 0,75      |
| 17.1. | 0,10            | 0,21       | 0,27       | 0,29       | 0,45       | 81,2      | 15,6      |
| 20.1. | 0,09            | 0,20       | 0,24       | 0,31       | 0,53       | 91,2      | 14,0      |
| 21.1. | 0,10            | 0,20       | 0,27       | 0,30       | 0,49       | 80,7      | 12,5      |
| 23.1. | 0,09            | 0,21       | 0,25       | 0,32       | 0,49       | 80,8      | 12,9      |
| 24.1. | 0,11            | 0,21       | 0,26       | 0,30       | 0,56       | 84,0      | 13,1      |
| 24.1. | 0,11            | 0,21       | 0,26       | 0,31       | 0,56       | 80,3      | 16,2      |
| 27.1. | 0,13            | 0,22       | 0,26       | 0,31       | 0,56       | 79,5      | 13,3      |
| 30.1. | 0,15            | 0,23       | 0,27       | 0,32       | 0,47       | 80,0      | 16,1      |
| 30.1. | 0,14            | 0,23       | 0,27       | 0,31       | 0,51       | 79,2      | 12,4      |
| 30.1. | 0,12            | 0,22       | 0,25       | 0,33       | 0,50       | 86,0      | 13,3      |
| 11.2. | 0,12            | 0,25       | 0,27       | 0,31       | 0,50       | 82,7      | 12,2      |
| 11.2. | 0,12            | 0,21       | 0,24       | 0,30       | 0,49       | 75,2      | 11,8      |
| 11.2. | 0,08            | 0,23       | 0,24       | 0,32       | 0,52       | 81,1      | 15,2      |
| 13.2. | 0,12            | 0,24       | 0,25       | 0,32       | 0,50       | 80,5      | 14,1      |
| 15.2. | 0,10            | 0,21       | 0,24       | 0,31       | 0,50       | 82,1      | 11,1      |
| 15.2. | 0,11            | 0,19       | 0,26       | 0,32       | 0,51       | 84,0      | 11,0      |
| 16.2. | 0,10            | 0,23       | 0,27       | 0,35       | 0,50       | 78,6      | 11,6      |
| 16.2. | 0,13            | 0,25       | 0,27       | 0,37       | 0,52       | 79,4      | 11,9      |
| 23.2. | 0,11            | 0,22       | 0,25       | 0,26       | 0,55       | 82,3      | 11,4      |
| 23.2. | 0,09            | 0,18       | 0,24       | 0,31       | 0,49       | 83,4      | 11,6      |
|       | 0,12            | 0,21       | 0,26       | 0,31       | 0,51       | 81,7      | 13,1      |
|       | $\pm 0,01$      | $\pm 0,02$ | $\pm 0,02$ | $\pm 0,02$ | $\pm 0,03$ | $\pm 9,5$ | $\pm 2,9$ |

Tabelle 1b

Analysenergebnisse der Kontrollproben, endogenes Progesteron

| 1981  | ng/ml<br>I<br>(30 $\mu$ m) | ng/ml<br>II<br>(30 $\mu$ m) | ng/ml<br>III<br>(100 $\mu$ m) | relative<br>Bindung%<br>0,03ng 0,75ng |           |
|-------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|-----------|
| 24.2. | 0,46                       | 1,70                        | 5,82                          | 83,9                                  | 14,5      |
| 24.2. | 0,51                       | 1,62                        | 5,93                          | 85,5                                  | 11,7      |
| 28.4. | 0,45                       | 1,55                        | 5,32                          | 83,5                                  | 10,8      |
| 6.3.  | 0,50                       | 1,64                        | 5,73                          | 80,5                                  | 10,8      |
| 6.3.  | 0,58                       | 1,71                        | 6,24                          | 81,4                                  | 10,3      |
| 11.3. | 0,55                       | 1,62                        | 5,0                           | 84,1                                  | 10,7      |
| 11.3. | 0,51                       | 1,70                        | 6,0                           | 80,1                                  | 11,6      |
| 25.3. | 0,45                       | 1,68                        | 6,46                          | 79,1                                  | 10,6      |
| 25.3. | 0,41                       | 1,65                        | 6,21                          | 81,6                                  | 10,8      |
| 31.3. | 0,38                       | 1,51                        | 5,32                          | 83,3                                  | 9,9       |
| 31.3. | 0,42                       | 1,56                        | 5,24                          | 91,2                                  | 10,7      |
| 31.3. | 0,41                       | 1,50                        | 5,32                          | 83,4                                  | 10,8      |
| 31.3. | 0,48                       | 1,49                        | 5,0                           | 85,3                                  | 10,2      |
| 31.3. | 0,40                       | 1,54                        | 5,21                          | 84,1                                  | 10,7      |
| 14.4. | 0,39                       | 1,59                        | 5,60                          | 79,2                                  | 13,6      |
| 14.4. | 0,43                       | 1,49                        | 5,45                          | 83,0                                  | 12,3      |
| 15.4. | 0,45                       | 1,59                        | 5,60                          | 79,2                                  | 13,6      |
| 15.4. | 0,38                       | 1,70                        | 5,51                          | 83,3                                  | 11,8      |
| 4.5.  | 0,41                       | 1,64                        | 6,0                           | 96,7                                  | 14,4      |
| 4.5.  | 0,52                       | 1,71                        | 5,8                           | 92,7                                  | 14,1      |
| 14.5. | 0,42                       | 1,70                        | 6,16                          | 94,7                                  | 13,2      |
| 14.5. | 0,39                       | 1,62                        | 6,0                           | 86,6                                  | 10,4      |
| 14.5. | 0,44                       | 1,80                        | 6,61                          | 89,4                                  | 11,2      |
| 16.5. | 0,41                       | 1,73                        | 6,43                          | 82,7                                  | 10,5      |
| 22.6. | 0,42                       | 1,66                        | 5,7                           | 83,1                                  | 9,5       |
| 25.6. | 0,44                       | 1,64                        | 5,8                           | 82,0                                  | 11,1      |
| 25.6. | 0,48                       | 1,68                        | 5,9                           | 88,1                                  | 11,8      |
|       | 0,45                       | 1,63                        | 5,75                          | 82,6                                  | 11,5      |
|       | $\pm 0,05$                 | $\pm 0,07$                  | $\pm 0,25$                    | $\pm 7,4$                             | $\pm 3,6$ |

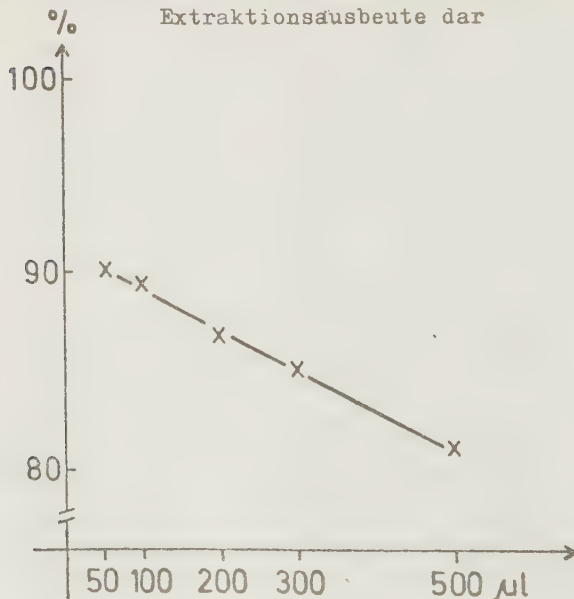
### Extraktionsausbeute

Bei diesem Arbeitsgang erfolgte die Überprüfung der Extraktionsausbeute anhand der Wiederfindung von radioaktiv markiertem Progesteron.

Von Progesteron befreites Bullenplasma in Mengen von  $50\ \mu\text{l}$  -  $500\ \mu\text{l}$  wurden mit je  $100\ \mu\text{l}$  verdünntem  $^3\text{H}$  Progesteron (ca.  $16.000\ \text{cpm}/100\ \mu\text{l}$ ) und  $5\ \text{ml}$  Petroläther dem Extraktionsgang unterzogen. Für jede Mengeneinheit des verwendeten Plasmas erfolgte eine Zehnfachbestimmung.

Dabei stellte sich heraus, daß eine nahezu lineare Korrelation der Wiederfindung in Abhängigkeit von der eingesetzten Plasmamenge auftrat. Bei  $50\ \mu\text{l}$  Plasma lag die Wiederfindung durchschnittlich bei  $90,4\%$ , bei  $500\ \mu\text{l}$  Plasma dagegen bei durchschnittlich  $81,6\%$ . Daraus ergibt sich, daß die Wiederfindung in Abhängigkeit vom verwendeten Aliquot bei den biologischen Proben ermittelt werden sollte.

Abbildung 6 stellt die ermittelten Werte der Extraktionsausbeute dar



## Zuverlässigkeit der Untersuchungsergebnisse

Da jede Plasmaprobe im Doppelansatz untersucht wurde, konnte der Variationskoeffizient der Ergebnisse errechnet werden.

Bei einer Variation  $> 15\%$  der ermittelten Werte erfolgte eine Wiederholung der Analyse.

Die Mittelwerte der Einzelergebnisse werden in den folgenden (s. 3.3) Zeichnungen dargestellt.

## 2.3 LH- und FSH- Bestimmungen

Die zum Vergleich dargestellten LH- und FSH- Werte wurden von Frl. Dipl. agr. U. Oerterer und Herrn Dr. med. vet. E. Schallenberger erarbeitet und für die vorliegende Dissertation zur Verfügung gestellt. Die LH- Bestimmung erfolgte durch den Radioimmunotest, wie er 1969 von Schams und Karg beschrieben wurde. 1976 erarbeiteten Schams und Schallenberger einen radioimmunologischen Test für FSH, der für die Ermittlung der dargestellten FSH- Daten Anwendung fand.

## 2.4 Definitionen für die Ergebnisinterpretationen

### Zyklusstand

Auf Grund unterschiedlicher Zykluslängen der Einzeltiere wird der Tag vor der Brunst als Tag - 1 bezeichnet; der Tag 0 entspricht demnach dem Tag der Brunst und der Tag + 1 im Normalfall dem Tag der Ovulation.

### Mittlere Hormonsekretion

Der Mittelwert aller Meßdaten eines Versuchstages stellt die jeweilige mittlere Sekretion des betreffenden Hormons dar. Sie wird als  $\bar{x}$  bezeichnet. Maximale Abweichungen vom Mittelwert werden durch +x bzw. -x gekennzeichnet.

### Pulsatile Freisetzung

Als Puls oder pulsatile Hormonfreisetzung wird eine Konzentrationsschwankung bezeichnet, die größer als die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert ist. Einer pulsatilen Freisetzung folgt in der Regel ein logarithmischer Konzentrationsabfall pro Zeiteinheit.

### Kurzzeitschwankung

Der Begriff Kurzzeitschwankung bezeichnet die zeitlich begrenzte Konzentrationssteigerung eines Hormons, der ein Konzentrationsabfall folgt.

### Intervall, Frequenz

Als Intervall (Angabe in Minuten) wird die Zeit zwischen zwei Gipfelwerten des jeweiligen Hormons bezeichnet. Die durchschnittliche Dauer des Intervalls während eines Versuchstages trägt die Bezeichnung  $\bar{t}$ , maximale Abweichungen vom ermittelten Durchschnitt sind durch  $+t$  bzw.  $-t$  gekennzeichnet.

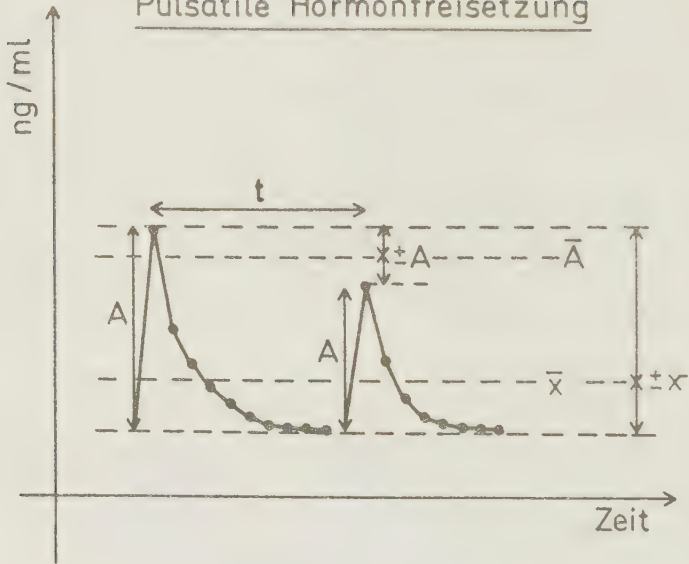
### Nettoanstieg, Amplitude

Der Konzentrationsunterschied zwischen dem ermittelten Hormonwert vor dem auftretenden Puls und dem Gipfelwert des Pulses wird Nettoanstieg oder Amplitude genannt;  $\bar{A}$  entspricht somit dem mittleren Nettoanstieg,  $+A$  bzw.  $-A$  der maximalen Abweichung vom Mittelwert.

In Abbildung 7 sind diese Parameter graphisch dargestellt.

Abbildung 7

# Pulsatile Hormonfreisetzung



$x$  Hormonsekretion

$\bar{x}$  mittlere Hormonsekretion

$\pm x$  maximale Abweichung von der mittleren Hormonsekretion

$A$  Amplitude

$\bar{A}$  durchschnittliche Amplitudenhöhe

$\pm A$  maximale Abweichungen von der mittleren Amplitudenhöhe

$t$  Pulsintervall

$\bar{t}$  mittleres Pulsintervall

$\pm t$  maximale Abweichungen vom mittleren Pulsintervall



### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Versuchstier "Kona"

Alter bei Versuchsbeginn: 18 Monate

Zykluslänge: 21 Tage

Tag 0 bzw. 21

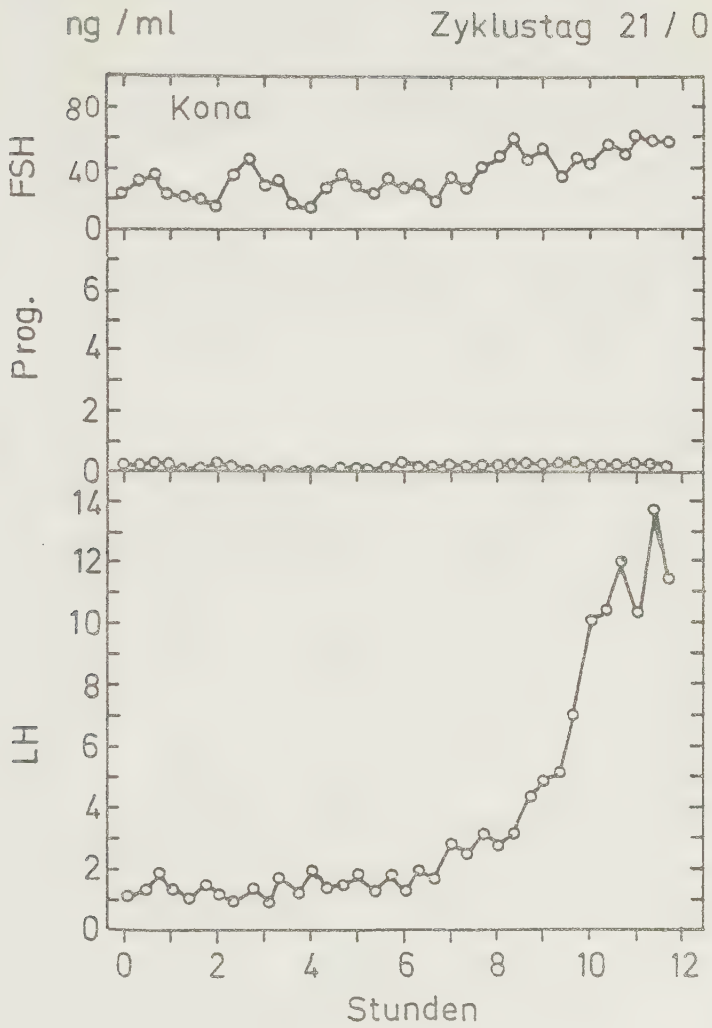
Die mittlere Progesteronkonzentration im peripheren Plasma liegt bei 0,2 ng/ml (siehe Tabelle 2 und Abbildung 8)

Tabelle 2

|                   | FSH  | LH<br>+ | Progesteron |
|-------------------|------|---------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 34,9 | 1,5     | 0,2         |
| +x                | 47,7 | 1,7     | 0,1         |
| -x                | 12,9 | 1,1     | 0,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 15,6 | 0,8     | ---         |
| +A                | 19,4 | 0,3     | ---         |
| -A                | 9,6  | 0,4     | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 60   | 46      | ---         |
| +t                | 60   | 14      | ---         |
| -t                | 20   | 6       | ---         |

+ Werte bis zum präovulatorischen LH- Anstieg

Abbildung 8



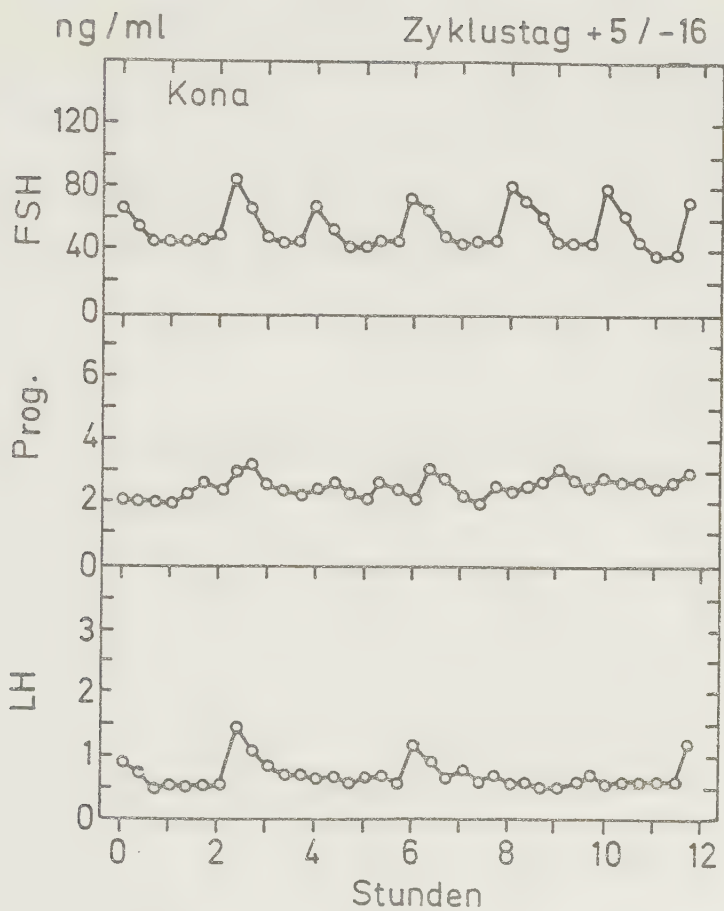
Tag + 5 bzw. - 16

Durchschnittlich 2,4 ng/ml beträgt jetzt die Progesteronkonzentration im Plasma. Konzentrationsänderungen sind in 220 minütigen Intervallen erkennbar. Zeitlich gesehen fällt jeder LH- Puls mit einem FSH- Puls zusammen. Ein deutlicher Anstieg der Progesteronkonzentration folgt den LH- Pulsen in 20 minütigem Abstand (s. Tabelle 3 und Abbildung 9 ).

Tabelle 3

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 53,4 | 0,74 | 2,4         |
| +x                | 30,6 | 0,76 | 0,8         |
| -x                | 17,4 | 0,24 | 0,5         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 30,7 | 0,8  | 0,6         |
| +A                | 7,4  | 0,2  | 0,1         |
| -A                | 4,7  | 0,2  | 0,1         |
| $\bar{t}$ (min)   | 120  | 280  | 220         |
| +t                | 20   | 60   | 0           |
| -t                | 20   | 60   | 0           |

Abbildung 9



Tag + 8 bzw. - 13

Die mittlere Progesteronkonzentration beträgt 3,6 ng/ml. Konzentrationsänderungen erfolgen in in größeren Zeitintervallen (vergl. Tag + 5); der Nettoanstieg nimmt dabei zu.

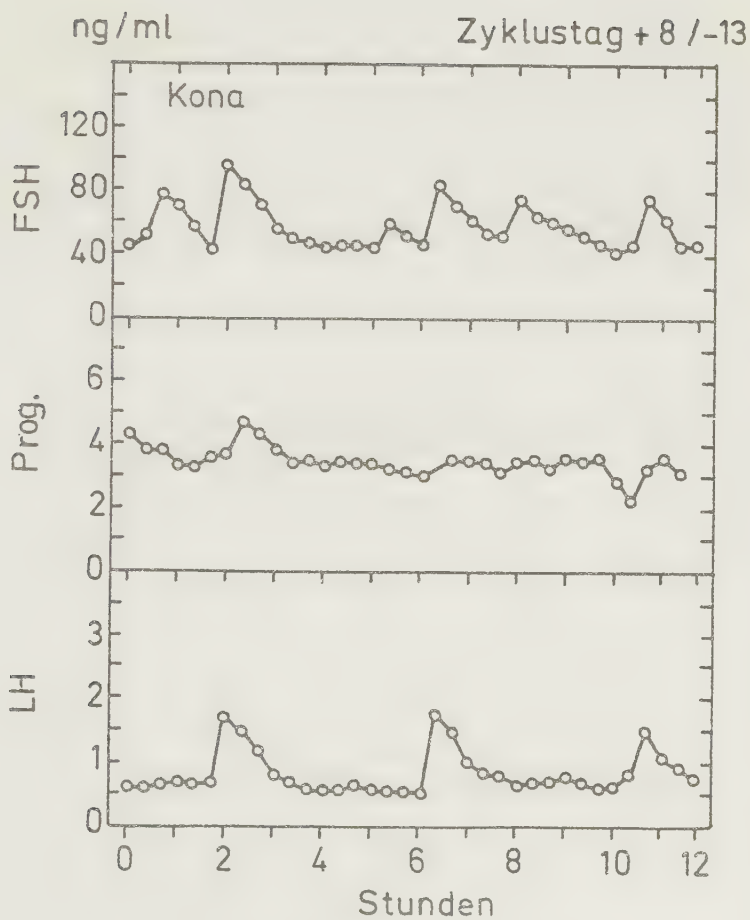
Allen drei Hormonen gemeinsam ist die Erhöhung der mittleren Sekretionsrate, der Amplitude und des Pulsintervalls.

Eine zeitliche Übereinstimmung der LH- und FSH-Freisetzung wird auch hier deutlich; auf Grund der unterschiedlichen Frequenz folgt Progesteron in einem 20 minütigen Intervall nur in einigen Fällen der LH- Freisetzung (s. Tabelle 4, Abbildung 10)

Tabelle 4

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 57,7 | 0,8  | 3,6         |
| +x                | 38,5 | 0,95 | 1,1         |
| -x                | 15,5 | 0,3  | 1,4         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 38,1 | 1,05 | 1,5         |
| +A                | 15,9 | 0,2  | 0           |
| -A                | 16,0 | 0,25 | 0           |
| $\bar{t}$ (min)   | 150  | 260  | 480         |
| +t                | 50   | 0    | 0           |
| -t                | 90   | 0    | 0           |

Abbildung 10



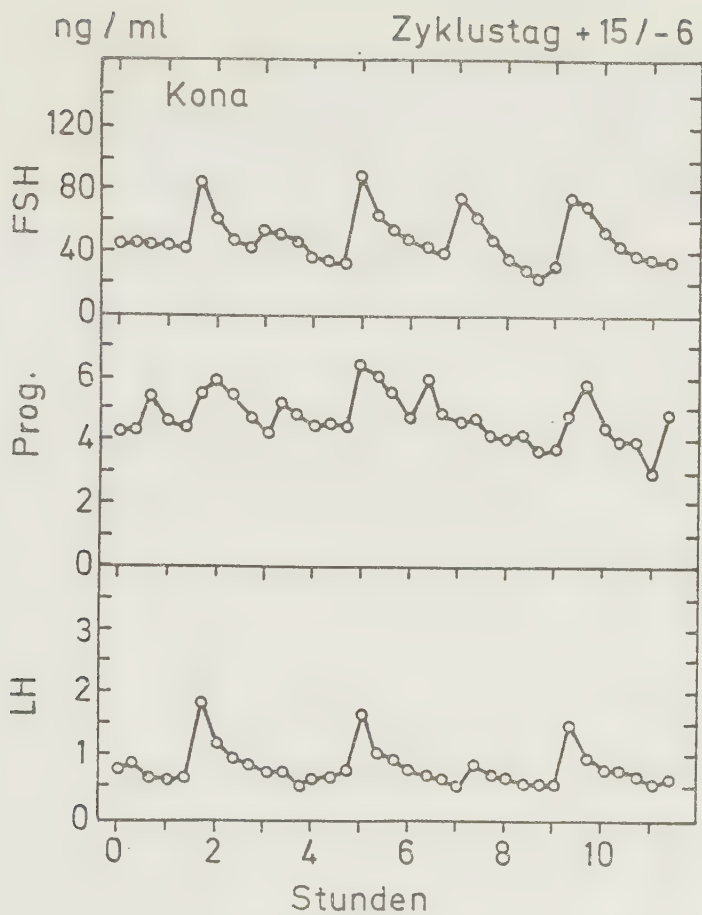
Tag + 15 bzw. Tag - 6

Mit 4,7 ng/ml erreicht die mittlere Progesteronkonzentration ihr Maximum während der Versuchstage. Der Nettoanstieg nimmt noch leicht zu; die Frequenz der Konzentrationsanstiege erhöht sich um mehr als das Vierfache. Obwohl FSH hier die doppelte Pulsationsrate des LHs aufweist, stimmt jeder LH- Anstieg mit einem FSH- Puls überein und wird nach 20 Minuten von einer Konzentrationserhöhung des Progesterons gefolgt. Einige Änderungen der Progesteronkonzentration erscheinen jedoch unabhängig von der LH- Freisetzung (s. Tabelle 5, Abbildung 11).

Tabelle 5

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 47,4 | 0,84 | 4,74        |
| +x                | 42,6 | 0,96 | 1,8         |
| -x                | 23,4 | 0,24 | 1,8         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 32,7 | 0,77 | 1,76        |
| +A                | 28,3 | 0,43 | 0,34        |
| -A                | 17,7 | 0,42 | 0,76        |
| $\bar{t}$ (min)   | 115  | 154  | 108         |
| +t                | 25   | 46   | 92          |
| -t                | 35   | 34   | 28          |

Abbildung 11



Tag + 18 bzw. - 3

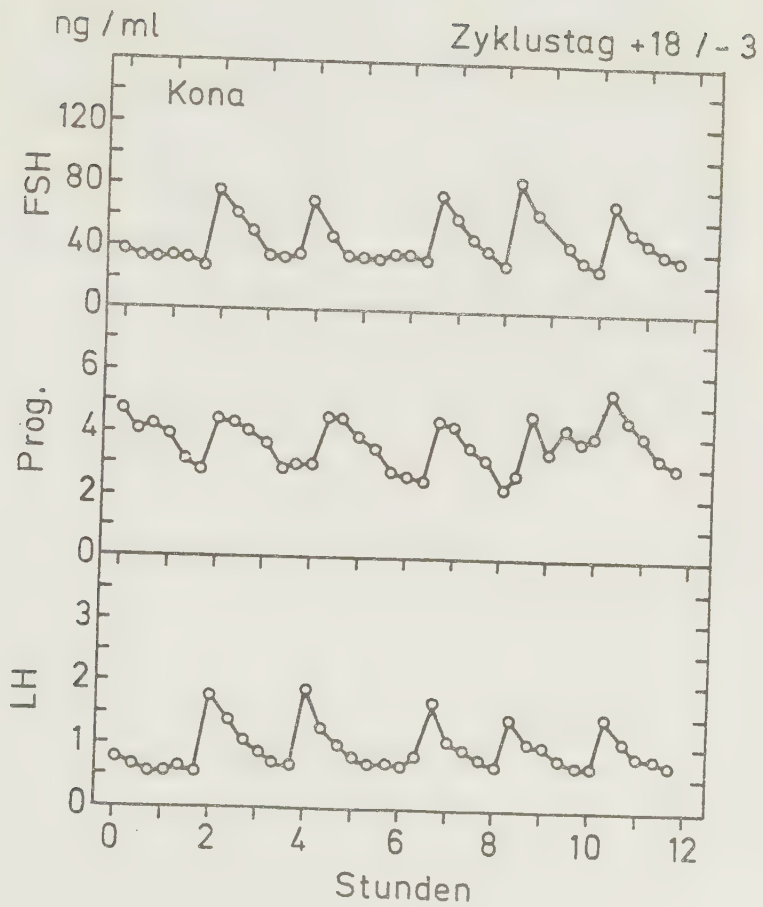
Gegenüber Tag + 15 ist die durchschnittliche Progesteronkonzentration um 1 ng/ml gefallen. Nettoanstieg und Frequenz der Konzentrationssteigerung ändern sich nur unwesentlich.

An diesem Versuchstag weisen alle drei analysierten Hormone nicht nur genau die gleiche Frequenz auf, sondern auch eine exakte Übereinstimmung bezüglich ihrer Freisetzung ins Plasma. Jedem LH- bzw. FSH-Puls folgt nach 0- 20 Minuten eine Steigerung der Progesteronkonzentration im Plasma (s. Tabelle 6, Abbildung 12).

Tabelle 6

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 44,0 | 0,92 | 3,7         |
| +x                | 40,0 | 0,98 | 0,7         |
| -x                | 18,0 | 0,32 | 1,5         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 41,8 | 1,0  | 1,84        |
| +A                | 15,0 | 0,3  | 0,7         |
| -A                | 5,8  | 0,25 | 0,32        |
| $\bar{t}$ (min)   | 125  | 125  | 125         |
| +t                | 35   | 35   | 15          |
| -t                | 25   | 25   | 25          |

Abbildung 12



### Zusammenfassung Kalbin "Kona"

Die Analysenergebnisse der Kalbin "Kona" weisen auf eine enge Beziehung zwischen FSH- und LH- Freisetzung sowie der Progesteronsekretion hin, die sich in einer zeitlichen Abhängigkeit der Pulse darstellt.

Die Enthemmung des Hypothalamus bzw. des HVL durch eine sinkende Progesteronfreisetzung zeichnet sich an der hochfrequenten FSH- und LH- Ausschüttung ab. FSH zeigt im Gegensatz zu LH keinen präovulatorischen Konzentrationsgipfel, sondern lediglich eine Erhöhung der basalen Sekretion.

Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß bereits vor Eintreten der Luteolyse die Frequenz der Kurzzeitschwankungen des Progesterons erheblich ansteigt. Erst am folgenden Versuchstag paßt sich LH dieser Frequenzänderung an (s. Tabelle 36).



### 3.2 Versuchstier "Rotina"

Alter bei Versuchsbeginn: 23 Monate

Zykluslänge: 26 Tage

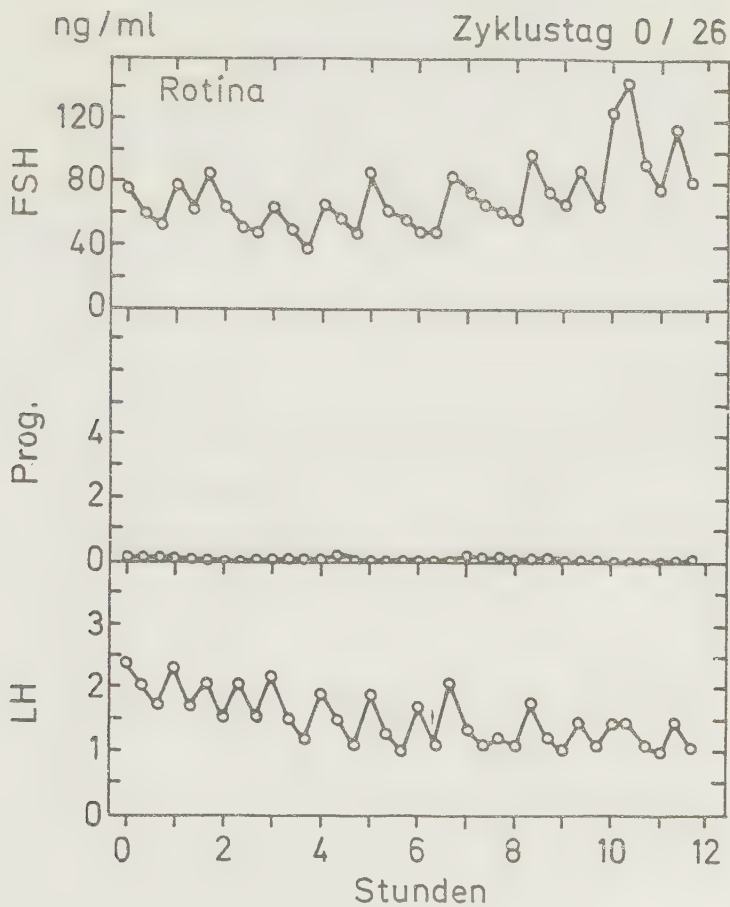
Tag 0 bzw. + 26

Die Progesteronsekretion liegt mit Werten  $\leq 0,1\text{ng/ml}$  an der Nachweisbarkeitsgrenze (s. Tabelle 7, Abbildung 13)..

Tabelle 7

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 72,1 | 1,5  | 0,1         |
| +x                | 72,0 | 0,9  | 0,05        |
| -x                | 36,1 | 0,5  | 0,05        |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 36,1 | 0,63 | ---         |
| +A                | 43,9 | 0,38 | ---         |
| -A                | 16,1 | 0,22 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 68   | 57   | ---         |
| +t                | 32   | 43   | ---         |
| -t                | 28   | 17   | ---         |

Abbildung 13



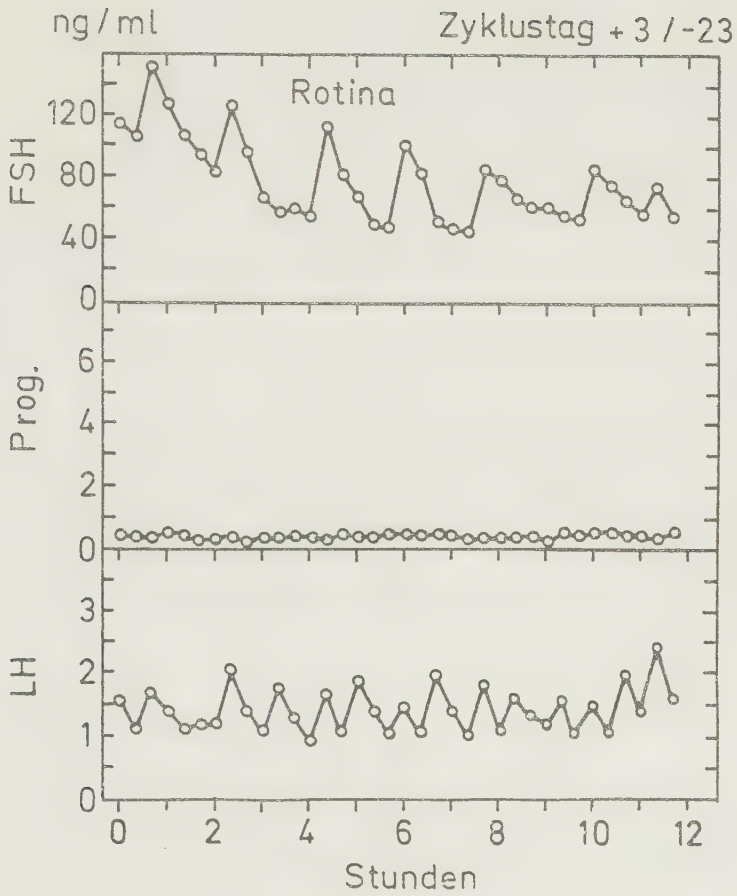
Tag + 3 bzw. - 23

Die durchschnittliche Progesteronsekretion steigert sich gegenüber Tag 0 um 0,4 ng/ml. Wesentliche Konzentrationsänderungen sind nicht erkennbar. (s. Tabelle 8, Abbildung 14 )

Tabelle 8

|                   | FSH  | LH  | Progesteron |
|-------------------|------|-----|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 77,4 | 1,4 | 0,5         |
| +x                | 73,6 | 0,6 | 0,2         |
| -x                | 33,4 | 0,5 | 0,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 41,8 | 0,7 | ---         |
| +A                | 18,2 | 0,3 | ---         |
| -A                | 21,8 | 0,3 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 106  | 55  | ---         |
| +t                | 34   | 45  | ---         |
| -t                | 26   | 15  | ---         |

Abbildung 14



Tag + 14 bzw. - 12

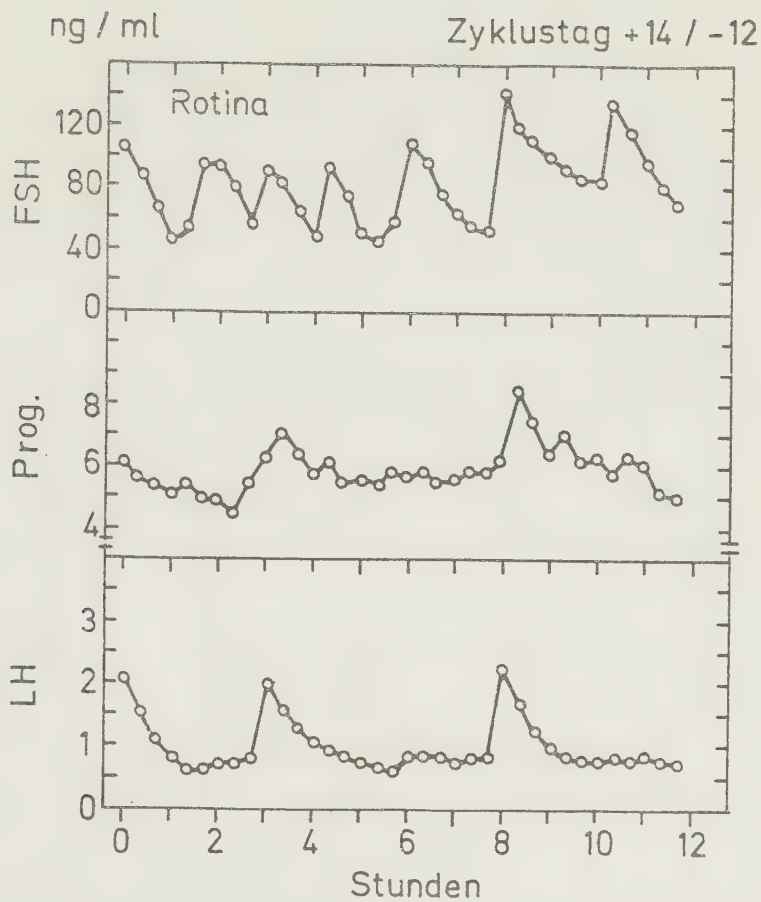
Die mittlere Progesteronsekretion steigt auf 5,9 ng/ml an. Eine Konzentrationsänderung erfolgt durchschnittlich alle 240 min, wobei der Nettoanstieg im Mittel 2,7 ng/ml beträgt.

Jeder LH- Puls wird in 20minütigem Abstand von einem deutlichen Anstieg der Progesteronkonzentration im Plasma begleitet. Andererseits jedoch stimmt auf Grund der höheren Frequenz nur jeder zweite bis dritte FSH- Puls mit einem LH- Anstieg zeitlich überein (s. Tabelle 9, Abbildung 15 )

Tabelle 9

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 82,2 | 0,94 | 5,9         |
| +x                | 59,8 | 1,3  | 2,6         |
| -x                | 43,2 | 0,34 | 1,4         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 53,3 | 1,4  | 2,7         |
| +A                | 46,7 | 0    | 0           |
| -A                | 16,7 | 0    | 0           |
| $\bar{t}$ (min)   | 104  | 240  | 240         |
| +t                | 36   | 60   | 0           |
| -t                | 24   | 60   | 0           |

Abbildung 1\*



Tag + 18 bzw. - 8

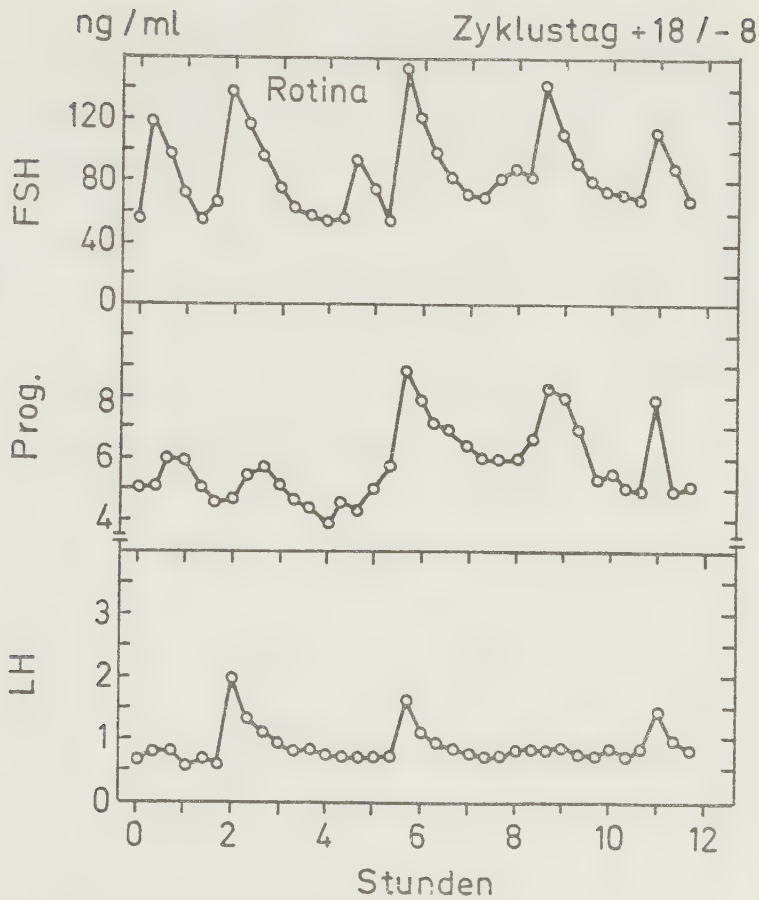
Die durchschnittliche Sekretionsrate des Progesterons (5,8 ng/ml) sowie der Nettoanstieg verändern sich gegenüber Tag + 14 nur unwesentlich, während die Intervalle der Konzentrationsanstiege eine markante Verringerung erfahren.

Auch an diesem Versuchstag folgt jedem LH- Puls eine Steigerung der Progesteronkonzentration im peripheren Plasma. Offensichtlich besteht aber auch eine Beziehung der Progesteronfreisetzung zu den frequenteren FSH- Pulsen, da fünf von sechs FSH- Pulsen von einer Erhöhung der Progesteronkonzentration begleitet werden, aber nur drei LH- Pulse mit der FSH- Freisetzung übereinstimmen (s. Tabelle 10, Abbildung 16).

Tabelle 10

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 87,2 | 0,86 | 5,8         |
| +x                | 67,8 | 1,1  | 3,0         |
| -x                | 32,2 | 0,3  | 2,0         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 76,7 | 1,0  | 2,7         |
| +A                | 23,3 | 0,4  | 2,3         |
| -A                | 36,7 | 0,25 | 1,7         |
| $\bar{t}$ (min)   | 128  | 270  | 150         |
| +t                | 52   | 50   | 30          |
| -t                | 68   | 50   | 30          |

Abbildung. 16



Tag + 21 bzw. - 5

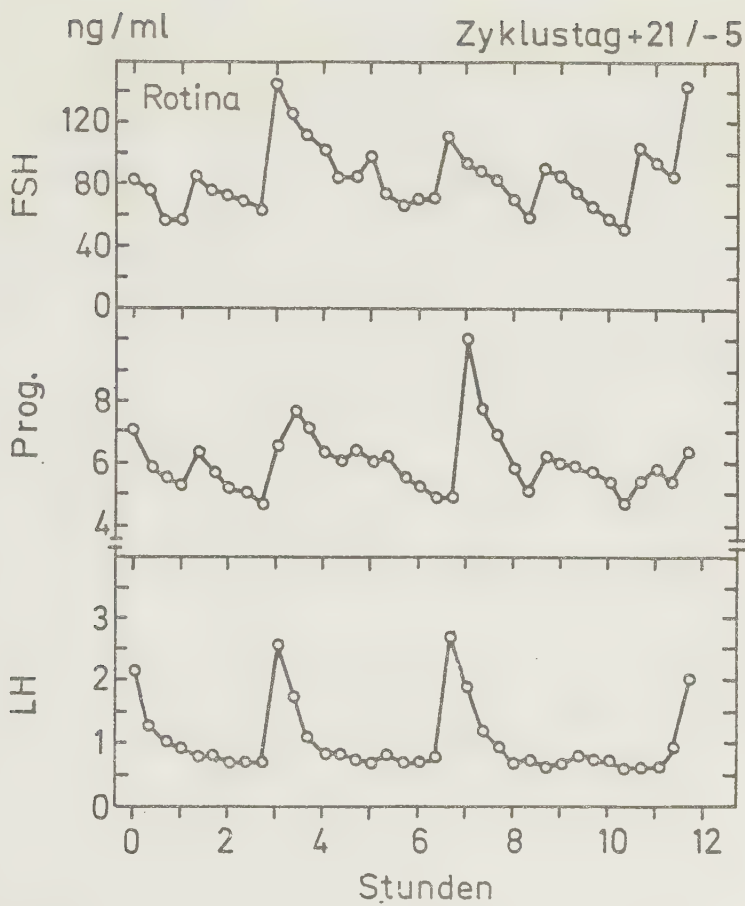
Die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma bleibt weiter auf ihrem hohen Niveau (6,0 ng/ml). Es zeigt sich ein geringer Frequenzanstieg der Konzentrationsänderungen. Der Nettoanstieg geht jedoch leicht zurück.

Einerseits wird an diesem Versuchstag jeder LH-Puls von einer Steigerung der Progesteronkonzentration gefolgt, andererseits bestehen aber auch hier Beziehungen zur FSH- Sekretion. Sie stellen sich nicht nur in einer nahezu übereinstimmenden Frequenz dar, sondern auch in einer zeitlichen Abhängigkeit der FSH- und Progesteronfreisetzung. Hier folgt in der Regel der FSH- Freisetzung ein Anstieg der Progesteronsekretion (s. Tabelle 11, Abbildung 17 )

Tabelle 11

|                   | FSH  | LH  | Progesteron |
|-------------------|------|-----|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 85,6 | 1,0 | 6,0         |
| +x                | 59,6 | 1,7 | 4,0         |
| -x                | 35,6 | 0,4 | 1,4         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 55,1 | 1,7 | 2,3         |
| +A                | 35,1 | 0,1 | 2,9         |
| -A                | 25,1 | 0,1 | 1,5         |
| $\bar{t}$ (min)   | 112  | 234 | 132         |
| +t                | 8    | 66  | 88          |
| -t                | 12   | 34  | 32          |

Abbildung 17



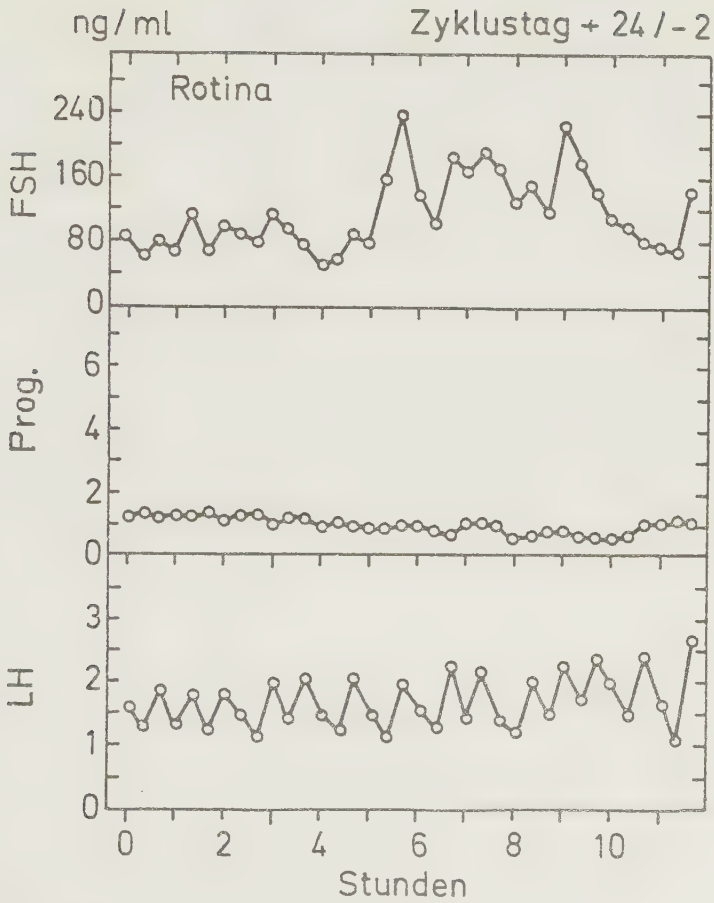
Tag + 24 bzw. - 2

Die durchschnittliche Progesteronkonzentration sinkt auf 1,0 ng/ml ab. Wesentliche Konzentrationsänderungen sind nicht erkennbar. (s. Abbildung 18 , Tabelle 12)

Tabelle 12

|                   | FSH   | LH   | Progesteron |
|-------------------|-------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 116,2 | 1,64 | 1,0         |
| +x                | 124,8 | 1,06 | 0,3         |
| -x                | 52,2  | 0,54 | 0,5         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 50,5  | 0,8  | ---         |
| +A                | 109,5 | 0,8  | ---         |
| -A                | 25,5  | 0,3  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 66    | 51   | ---         |
| +t                | 94    | 9    | ---         |
| -t                | 26    | 11   | ---         |

Abbildung 18



## Zusammenfassung Kalbin "Rotina"

Die Versuchsergebnisse des Tieres "Rotina" zeigen, daß eine Beziehung zwischen der FSH- Ausschüttung und - Frequenz sowie der Progesteronsekretion existieren könnte.

FSH reagiert schon früher als LH auf eine erhöhte Basalsekretion des Progesterons (Tag 3) mit einer Verminderung der Pulsfrequenz.

Bei hohen Progesteronkonzentrationen im Plasma (Corpus- luteum- Phase) halten FSH und LH weitgehend eine bestimmte Frequenz ein, wobei allerdings FSH etwa doppelt so schnell pulsiert wie LH.

Unabhängig davon steigt jedoch die Frequenz der Konzentrationsänderungen des Progesterons bereits deutlich am Tag 18 (bei einer Zykluslänge von 26 Tagen) an, während FSH und LH keine wesentliche Änderung der Pulsintervalle erkennen lassen; ihre Kurzzeitschwankungen sind wenig frequent.

Mit der Luteolyse tritt die erwartete hohe FSH- und LH- Basalsekretion und deren hohe Pulsfrequenz ein. Wie bei der Kalbin "Kona" zeigt FSH am Tag 0 ein Minimum der basalen Sekretion (s. Tabelle 37).



### 3.3 Versuchstier "Rinette"

Alter bei Versuchsbeginn: 18 Monate

Zykluslänge: 22 Tage

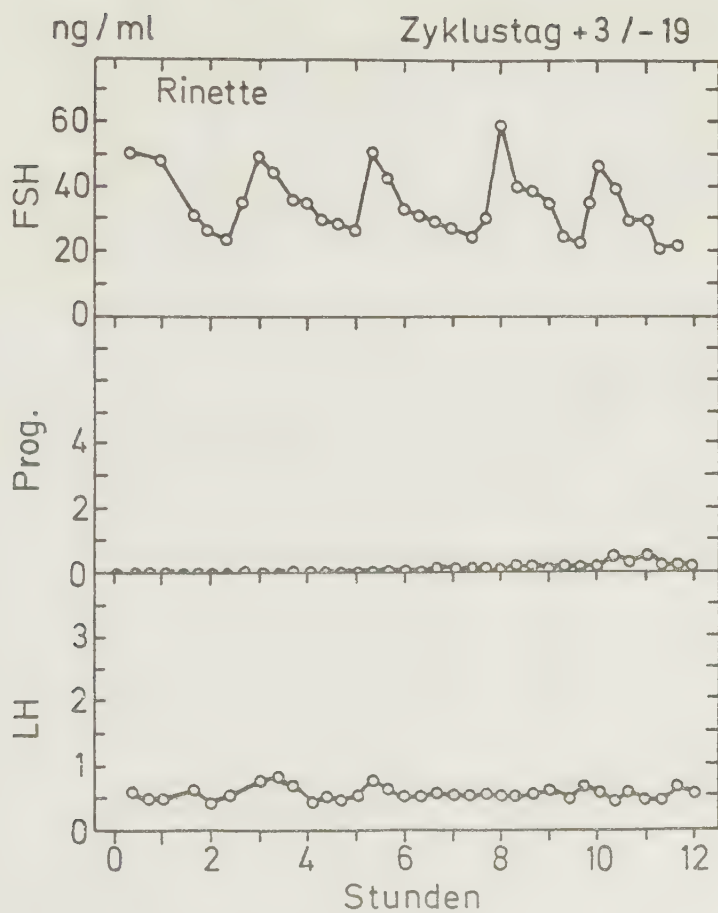
Tag +3 bzw. -19

Der durchschnittliche Progesteronspiegel bewegt sich um 0,2ng/ml, eine deutliche Konzentrationschwankung liegt nicht vor (s. Tabelle 13, Abbildung 19 ).

Tabelle 13

|                   | FSH  | LH  | Progesteron |
|-------------------|------|-----|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 34,8 | 0,5 | 0,2         |
| +x                | 15,2 | 0,3 | 0,2         |
| -x                | 14,8 | 0,1 | 0,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 27,3 | 0,3 | ---         |
| +A                | 8,7  | 0,2 | ---         |
| -A                | 4,3  | 0,2 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 145  | 120 | ---         |
| +t                | 15   | 140 | ---         |
| -t                | 25   | 60  | ---         |

Abbildung 19



Tag + 7 bzw. - 15

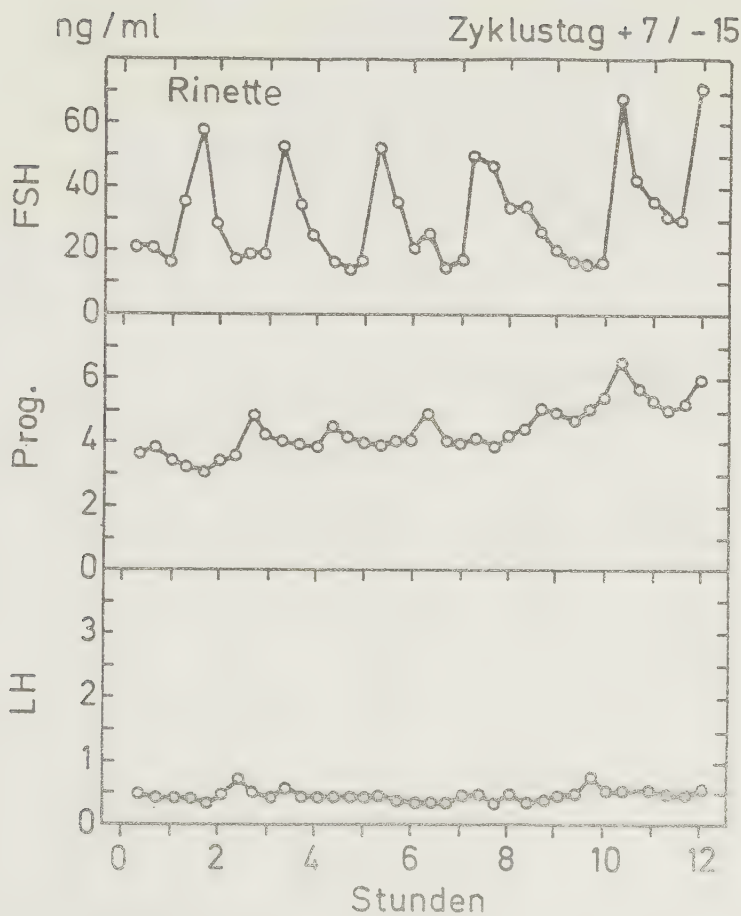
An diesem Tag wird eine mittlere Konzentration des Progesterons von 4,3 ng/ml erreicht. Konzentrationsänderungen um 1,4 ng/ml sind durchschnittlich alle 116 min erkennbar.

Direkte Beziehungen zwischen FSH- und LH- Sekretion sind an diesem Versuchstag nicht vorhanden. Demgegenüber folgen die Progesteronfreisetzungen den FSH- Pulsen (s. Tabelle 14, Abbildung 20 ).

Tabelle 14

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 30,6 | 0,41 | 4,3         |
| +x                | 37,3 | 0,29 | 2,2         |
| -x                | 15,6 | 0,11 | 1,3         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 38,4 | 0,3  | 1,4         |
| +A                | 12,6 | 0    | 0,6         |
| -A                | 4,4  | 0    | 0,7         |
| $\bar{t}$ (min)   | 124  | 440  | 116         |
| +t                | 56   | 0    | 24          |
| -t                | 24   | 0    | 16          |

Abbildung 20



Tag + 10 bzw. - 12

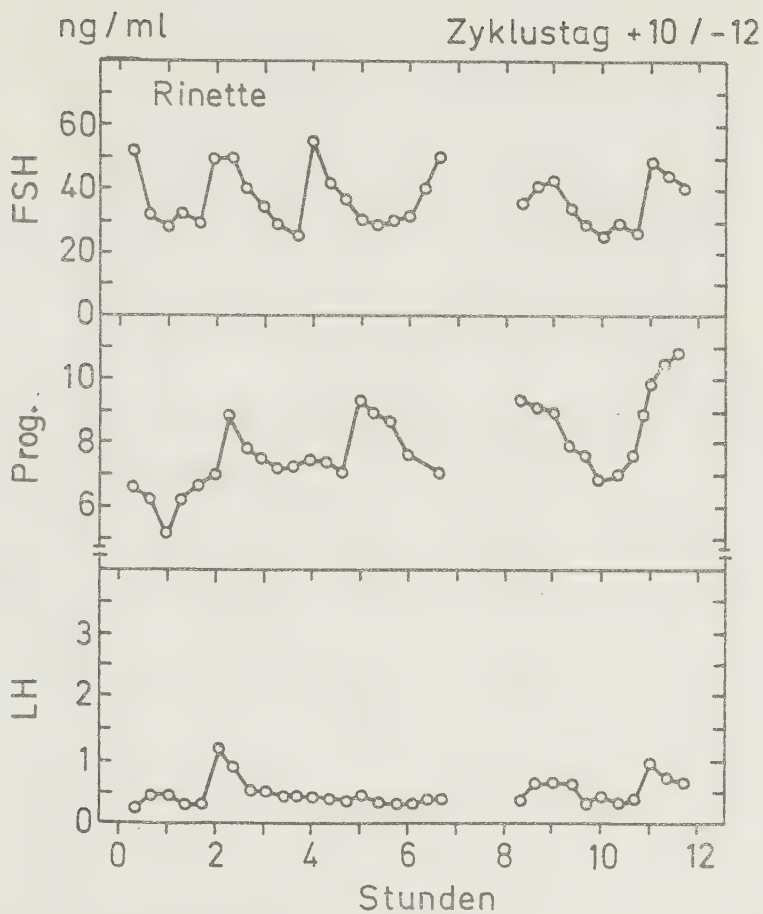
Die Rate der Progesteronsekretion beträgt durchschnittlich 7,6 ng/ml. Konzentrationsanstiege treten etwa alle 180 min auf.

Obwohl ein Teil der Proben dem Tier nicht entnommen werden konnte, zeigt sich, daß trotz der unterschiedlichen Frequenz von LH- und FSH- Pulation jeder LH-Puls mit einem FSH- Anstieg einhergeht und jeweils von einer Kurzzeitschwankung des Progesterons in einem 20 minütigen Intervall gefolgt wird. Dabei gehen vier von fünf FSH- Pulsen mit einer gesteigerten Progesteronsekretion einher (s. Tabelle 15, Abbildung 21).

Tabelle 15

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 37,0 | 0,47 | 7,6         |
| +x                | 18,0 | 0,78 | 3,4         |
| -x                | 13,0 | 0,17 | 2,5         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 23,0 | 0,7  | 3,2         |
| +A                | 9,0  | 0,2  | 0,8         |
| -A                | 3,0  | 0,2  | 0,9         |
| $\bar{t}$ (min)   | 125  | 540  | 180         |
| +t                | 35   | 0    | 20          |
| -t                | 25   | 0    | 20          |

Abbildung 21



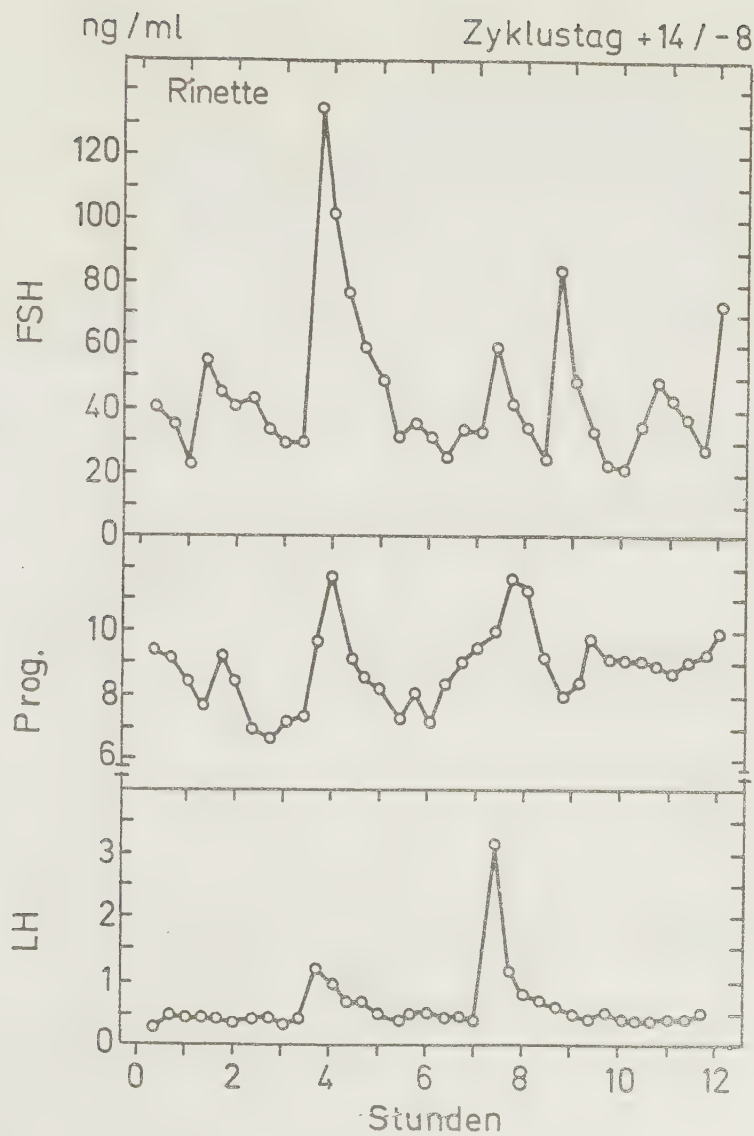
Tag + 14 bzw. - 8

Die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma steigt auf 8,9 ng/ml an. Während der Nettoanstieg unverändert bleibt, vermindert sich das Pulsintervall auf 155 min. Auch hier gilt, daß zwar jeder LH- Puls gleichzeitig mit einem FSH- Puls einhergeht, aber auch Beziehungen zwischen FSH- und Progesteronsekretion bestehen, was durch die im Vergleich zu LH höhere FSH- und Progesteronfrequenz besonders deutlich wird. Der Anstieg der Progesteronkonzentration folgt den LH- bzw. FSH- Pulsen jeweils in 20- 40-minütigem Abstand (s. Tabelle 16, Abbildung 22 ).

Tabelle 16

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 47,0 | 0,64 | 8,9         |
| +x                | 87,0 | 2,56 | 1,8         |
| -x                | 25,0 | 0,34 | 2,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 51,8 | 1,8  | 8,2         |
| +A                | 56,2 | 2,2  | 1,2         |
| -A                | 25,8 | 1,2  | 1,6         |
| $\bar{t}$ (min)   | 128  | 250  | 155         |
| +t                | 92   | 50   | 65          |
| -t                | 48   | 50   | 55          |

Abbildung 22



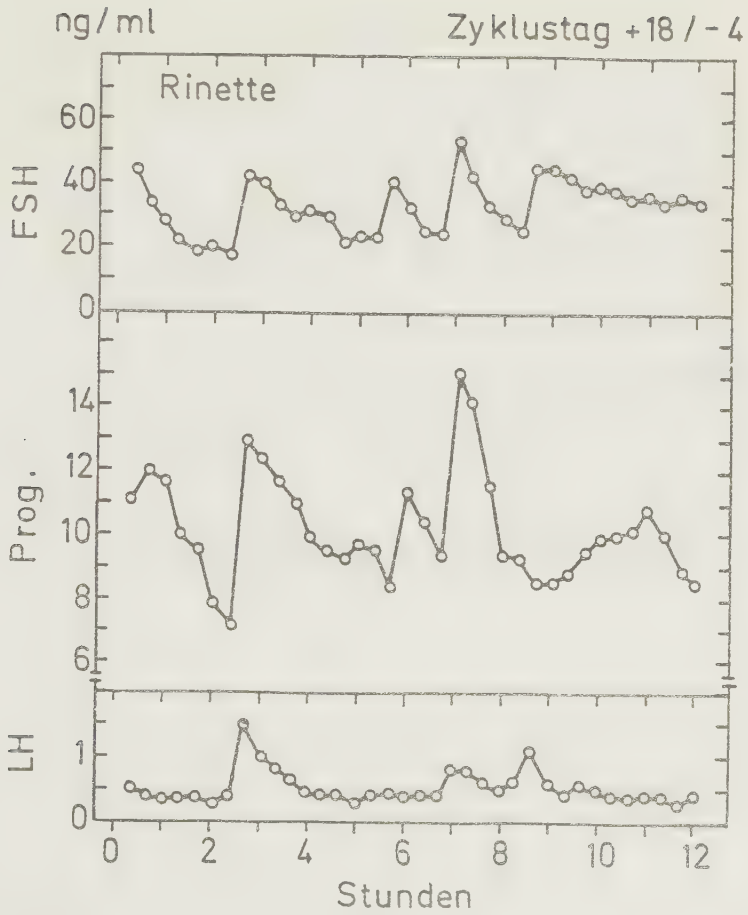
Tag + 18 bzw. - 4

Die durchschnittliche Progesteronsekretion erreicht mit 10,2 ng/ml ihren Höhepunkt. Der mittlere Nettoanstieg beträgt 4,4 ng/ml, während die Frequenz der Konzentrationssteigerungen keine Änderung erfährt. Dieser Versuchstag bestätigt erneut, daß zwar auch hier jeder LH- Anstieg mit einem FSH- Puls gekoppelt ist, und die Konzentrationsänderungen des Progesterons sowohl nach LH- als auch nach FSH- Pulsen auftreten (s. Tabelle 17, Abbildung 23 ).

Tabelle 17

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 32,7 | 0,53 | 10,2        |
| +x                | 21,3 | 0,97 | 4,9         |
| -x                | 15,7 | 0,23 | 3,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 24,8 | 0,8  | 4,35        |
| +A                | 5,2  | 0,4  | 1,65        |
| -A                | 6,8  | 0,4  | 1,35        |
| $\bar{t}$ (min)   | 125  | 180  | 155         |
| +t                | 55   | 80   | 85          |
| -t                | 45   | 80   | 95          |

Abbildung 23



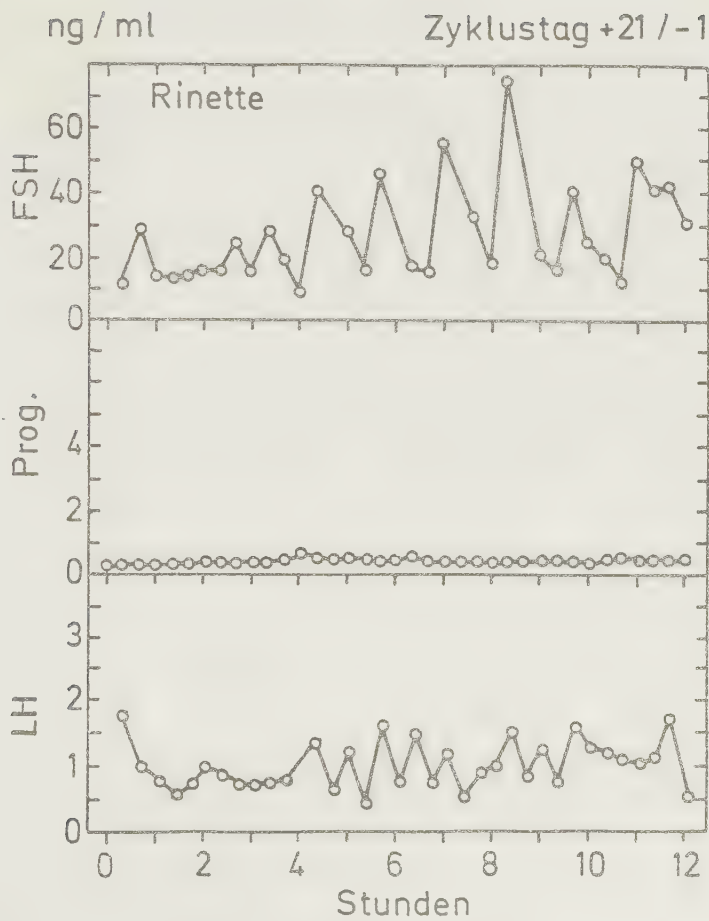
Tag + 21 bzw. - 1

Die mittlere Progesteronsekretion liegt bei 0,4 ng/ml. Weder ein Nettoanstieg noch ein Pulsintervall ist erkennbar (s. Tabelle 18, Abbildung 24 ).

Tabelle 18

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 26,6 | 1,0  | 0,4         |
| +x                | 40,4 | 0,8  | 0,2         |
| -x                | 16,6 | 0,6  | 0,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 29,3 | 0,76 | ---         |
| +A                | 28,7 | 0,44 | ---         |
| -A                | 19,3 | 0,36 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 78   | 65   | ---         |
| +t                | 42   | 75   | ---         |
| -t                | 38   | 25   | ---         |

Abbildung 24



## Zusammenfassung Kalbin "Rinette"

Bei der Kalbin "Rinette" fallen einige Besonderheiten ins Auge.

Die LH- Amplituden fallen hier im Gegensatz zu denen der vorangegangenen Tiere bei tieferem LH-Basalspiegel und geringerer Frequenz sehr niedrig aus; möglicherweise unterbindet die verhältnismäßig hohe Progesteronkonzentration während der Corpus- luteum- Phase durch ihren negativen Feedback- Mechanismus eine größere Amplitudenhöhe des LH.

Beachtenswert erscheint jedoch auch hier die Tatsache, daß bereits vor Eintritt der Luteolyse Progesteron- und LH- Frequenz deutlich ansteigen, während FSH seine Frequenz erst sehr spät ändert. Die Steigerung der pulsatischen FSH- Freisetzung geht auch bei diesem Tier mit einem Abfall der basalen Sekretionsrate des FSH auf ein Minimum einher (s. Tabelle 38).



### 3.4 Versuchstier "Rodos"

Alter bei Versuchsbeginn: 18 Monate

Zykluslänge: 23 Tage

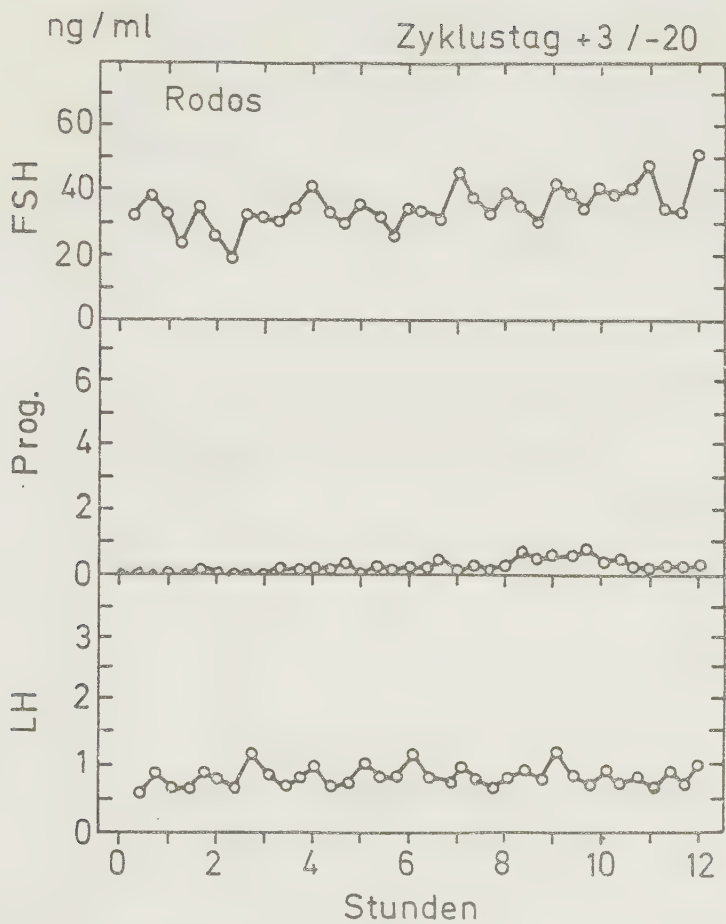
Tag + 3 bzw. - 20

Die Progesteronsekretion beträgt durchschnittlich 0,3 ng/ml. Konzentrationsänderungen im Sinne puls-ähnlicher Schwankungen sind nicht erkennbar (s. Tabelle 19, Abbildung 25 ).

Tabelle 19

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 35,4 | 0,84 | 0,3         |
| +x                | 16,6 | 0,36 | 0,5         |
| -x                | 17,4 | 0,14 | 0,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 10,2 | 0,3  | ---         |
| +A                | 9,8  | 0,2  | ---         |
| -A                | 2,8  | 0,1  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 62   | 60   | ---         |
| +t                | 18   | 20   | ---         |
| -t                | 2    | 20   | ---         |

Abbildung 25



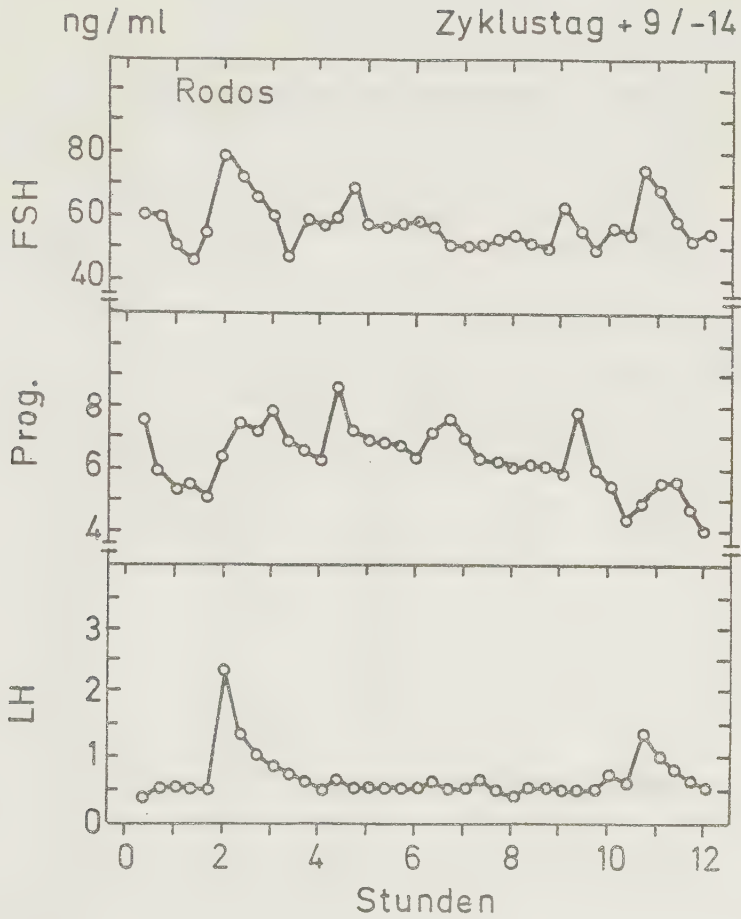
Tag + 9 bzw. - 14

Im peripheren Plasma steigt die durchschnittliche Progesteronkonzentration auf 6,4 ng/ml an. Kurzzeitschwankungen treten im Mittel alle 135 min auf. Der Nettoanstieg beträgt im Durchschnitt 2,1 ng/ml. FSH und Progesteron weisen eine etwa vierfache Frequenz ihrer Konzentrationsanstiege gegenüber LH auf; jeder LH- Puls stimmt mit einem FSH- Puls zeitlich überein. Die pulsatile FSH- Sekretion und die Kurzzeitschwankungen des Progesterons stehen auch hier in einem Zusammenhang. Progesteronfreisetzungen steigern sich in der Regel in einem zeitlichen Abstand von 20- 40 min nach den FSH- Pulsen ( s. Tabelle 20, Abbildung 26 )

Tabelle 20

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 59,5 | 0,68 | 6,4         |
| +x                | 20,5 | 1,62 | 2,3         |
| -x                | 13,5 | 0,28 | 2,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 23,7 | 1,3  | 2,1         |
| +A                | 11,3 | 0,5  | 0,7         |
| -A                | 9,7  | 0,55 | 0,9         |
| $\bar{t}$ (min)   | 130  | 520  | 135         |
| +t                | 30   | 0    | 25          |
| -t                | 30   | 0    | 55          |

Abbildung 26



Tag + 13 bzw. - 10

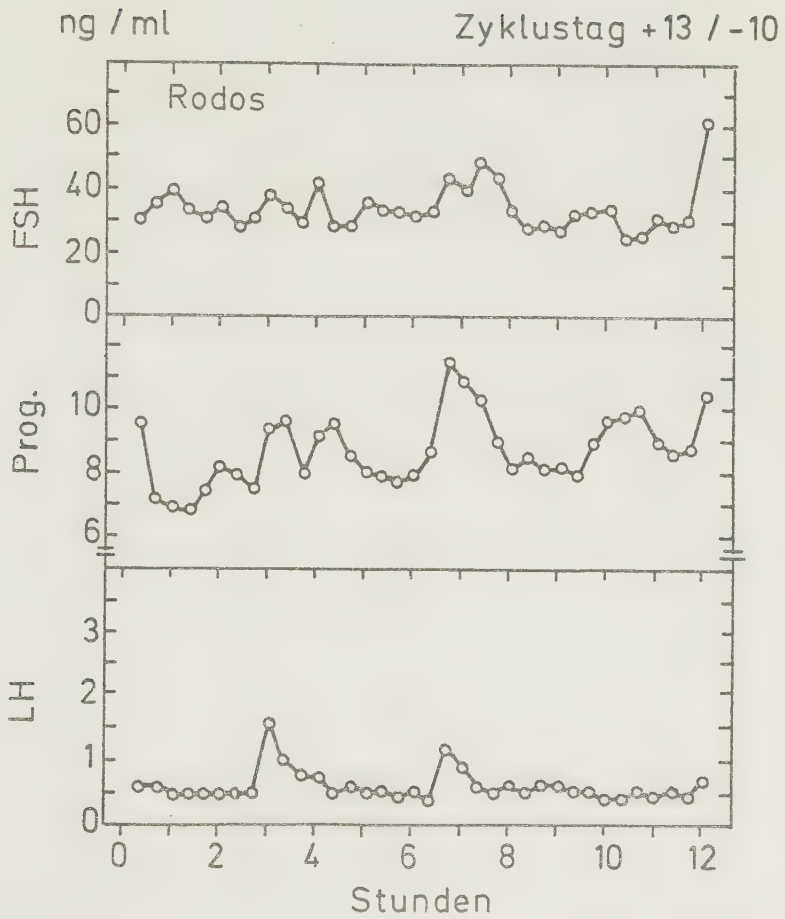
Die mittlere Sekretionsrate des Progesterons erreicht an diesem Versuchstag ihr Maximum mit 8,4 ng/ml. Der Nettoanstieg erfährt eine leichte Steigerung auf 2,3 ng/ ml. Das Intervall der pulsähnlichen Progesteronfreisetzen beträgt durchschnittlich 120 min.

Die Kurzzeitschwankungen des Progesterons folgen sowohl den LH- als auch den FSH- Pulsen in 0- 20 minütigem Abstand (s. Tabelle 21, Abbildung 27 ).

Tabelle 21

|                   | FSH  | LH  | Progesteron |
|-------------------|------|-----|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 34,2 | 0,6 | 8,4         |
| +x                | 28,8 | 1,0 | 3,1         |
| -x                | 9,2  | 0,2 | 1,7         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 14,6 | 0,9 | 2,3         |
| +A                | 18,4 | 0,2 | 1,5         |
| -A                | 9,6  | 0,2 | 0,8         |
| $\bar{t}$ (min)   | 94   | 280 | 120         |
| +t                | 66   | 60  | 120         |
| -t                | 34   | 60  | 60          |

Abbildung 27



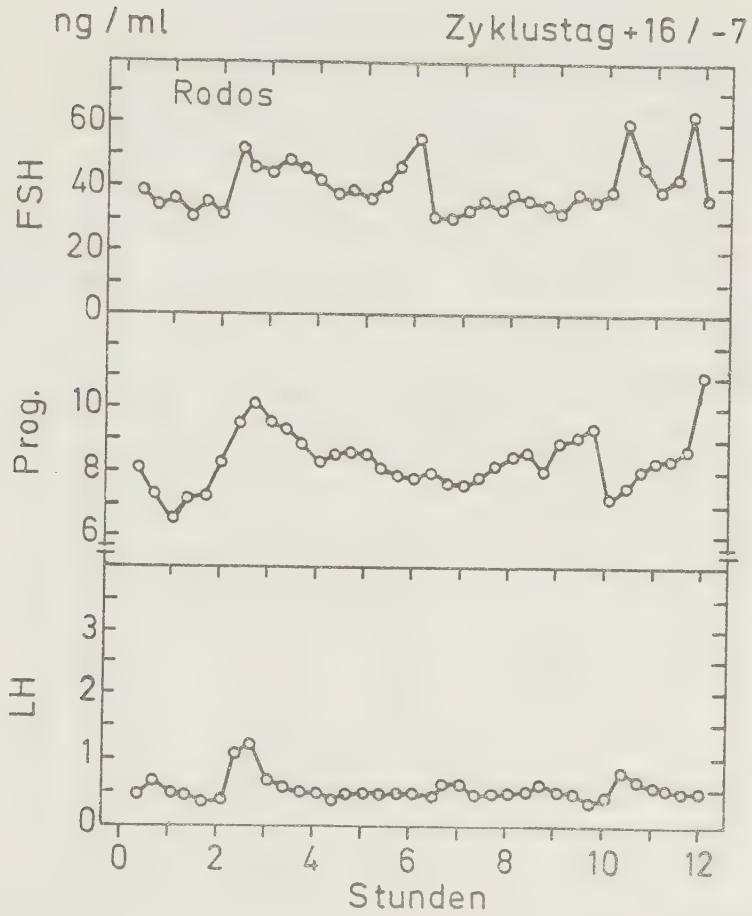
Tag + 16 bzw. - 7

Die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma bleibt auf dem erreichten Plateau (8,4 ng/ml). Die Frequenz der Konzentrationsänderungen sinkt auf durchschnittlich 186 min ab, während der Nettoanstieg sich auf 2,7 ng/ml im Mittel erhöht. Eine zeitliche Übereinstimmung zwischen LH- und FSH- Pulsatilität ist auch hier sichtbar, Progesteron aber folgt mit seiner Kurzzeitschwankung nicht immer dem LH- Anstieg. FSH und Progesteronfrequenz stimmen im Durchschnitt zwar überein, jedoch ist nicht in allen Fällen ein direkter Bezug zwischen FSH- und Progesteronfreisetzung vorhanden (s. Tabelle 22, Abbildung 28 ).

Tabelle 22

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 40,7 | 0,55 | 8,4         |
| +x                | 24,3 | 0,65 | 3,0         |
| -x                | 10,7 | 0,25 | 1,9         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 21,8 | 0,6  | 2,7         |
| +A                | 5,2  | 0,2  | 1,3         |
| -A                | 1,9  | 0,2  | 1,2         |
| $\bar{t}$ (min)   | 186  | 460  | 186         |
| +t                | 74   | 0    | 14          |
| -t                | 106  | 0    | 106         |

Abbildung 28



Tag + 19 bzw. - 4

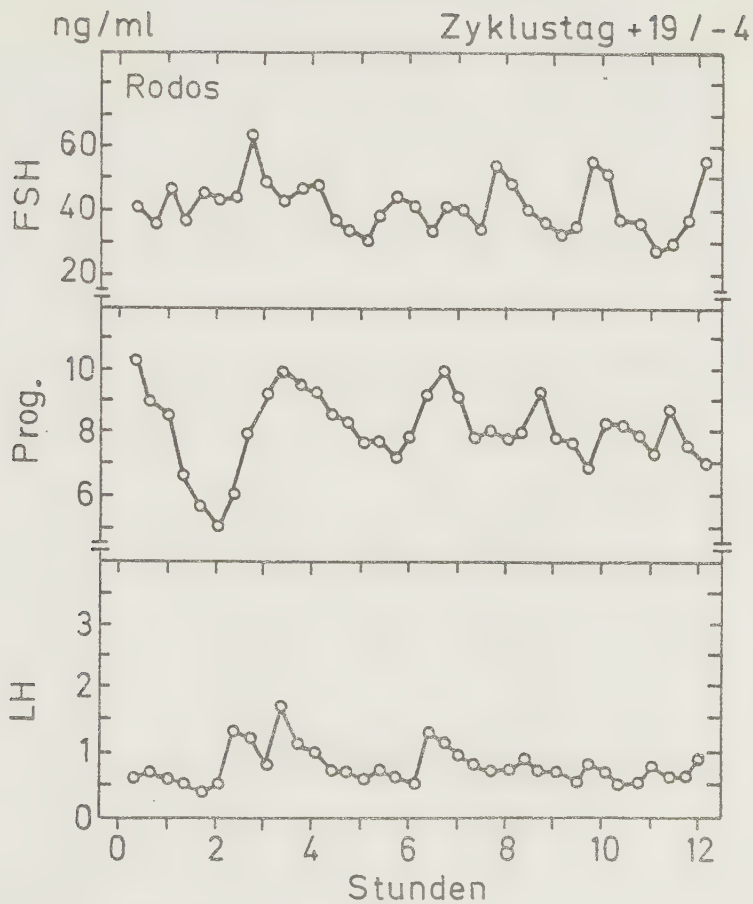
Gegenüber Tag - 7 sinkt die durchschnittliche Progesteronkonzentration im Plasma nur unwesentlich um 0,3 ng/ml ab. Während die Frequenz der Kurzzeitschwankungen zunimmt (132 min), verändert sich der Nettoanstieg nur geringfügig.

Nach jeweils 20 min folgt jedem LH- Puls eine Steigerung der Progesteronsekretion. Demgegenüber stimmen die FSH- und LH- Pulse zeitlich nur in einigen Fällen überein. Eine zeitliche Verzögerung der Gonadotropinfreisetzung um 20- 40 min liegt vor (s. Tabelle 23, Abbildung 29 ).

Tabelle 23

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 43,5 | 0,78 | 8,1         |
| +x                | 22,5 | 0,92 | 2,2         |
| -x                | 12,5 | 0,38 | 3,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 16,1 | 0,5  | 2,5         |
| +A                | 13,9 | 0,3  | 2,3         |
| -A                | 10,1 | 0,25 | 0,9         |
| $\bar{t}$ (min)   | 94   | 98   | 132         |
| +t                | 146  | 82   | 68          |
| -t                | 54   | 38   | 52          |

Abbildung 29



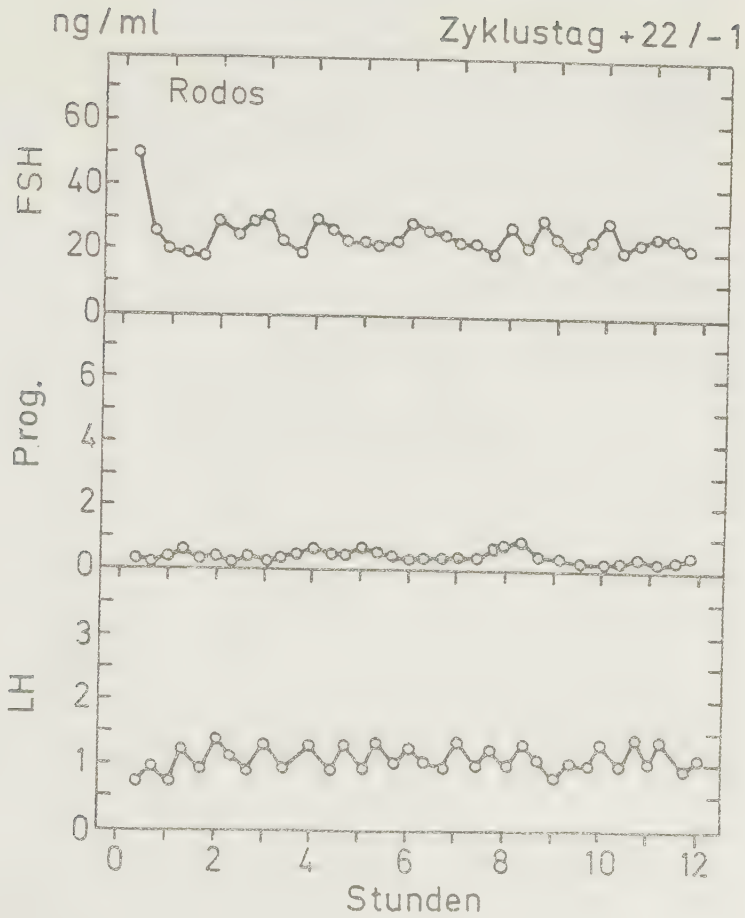
Tag + 22 bzw. - 1

Die Sekretionsrate des Progesterons beläuft sich durchschnittlich auf 0,5 ng/ml. Leichte Konzentrationsschwankungen sind zwar vorhanden, sie können allerdings nicht als pulsähnliche Änderungen angesehen werden (s. Tabelle 24, Abbildung 30 ).

Tabelle 24

|                   | FSH  | LH  | Progesteron |
|-------------------|------|-----|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 26,7 | 1,1 | 0,5         |
| +x                | 23,3 | 0,3 | 0,3         |
| -x                | 8,7  | 0,4 | 0,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 11,4 | 0,3 | ---         |
| +A                | 21,6 | 0,2 | ---         |
| -A                | 4,4  | 0,1 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 82   | 51  | ---         |
| +t                | 38   | 49  | ---         |
| -t                | 42   | 11  | ---         |

Abbildung 30



### Zusammenfassung Kalbin "Rodos"

Das Tier "Rodos" zeigt während der Versuchstage eine ungewöhnliche Frequenzänderung der gonadotropen Hormone sowie des Progesterons in der Corpus- luteum- Phase (Tag 13), die dann jedoch wieder aufgehoben wird (Tag - 7).

Am Tag - 4 setzt trotz unverändert hoher Progesteronkonzentration im Plasma eine Frequenzbeschleunigung aller drei Hormone ein, die für LH und FSH ihren Gipfel in der Versuchsreihe am Tag - 1 erreicht. LH zeigt hier (Tag - 4) schon einen durchschnittlichen Konzentrationsanstieg um 0,28 ng/ml.

Die basale FSH- Sekretion hingegen erreicht am Tag - 1 ihr Minimum (s. Tabelle 39).



### 3.5 Versuchstier "Lolla"

Alter bei Versuchsbeginn: 18 Monate

Zykluslänge: 20 Tage

Tag + 20 bzw. 0

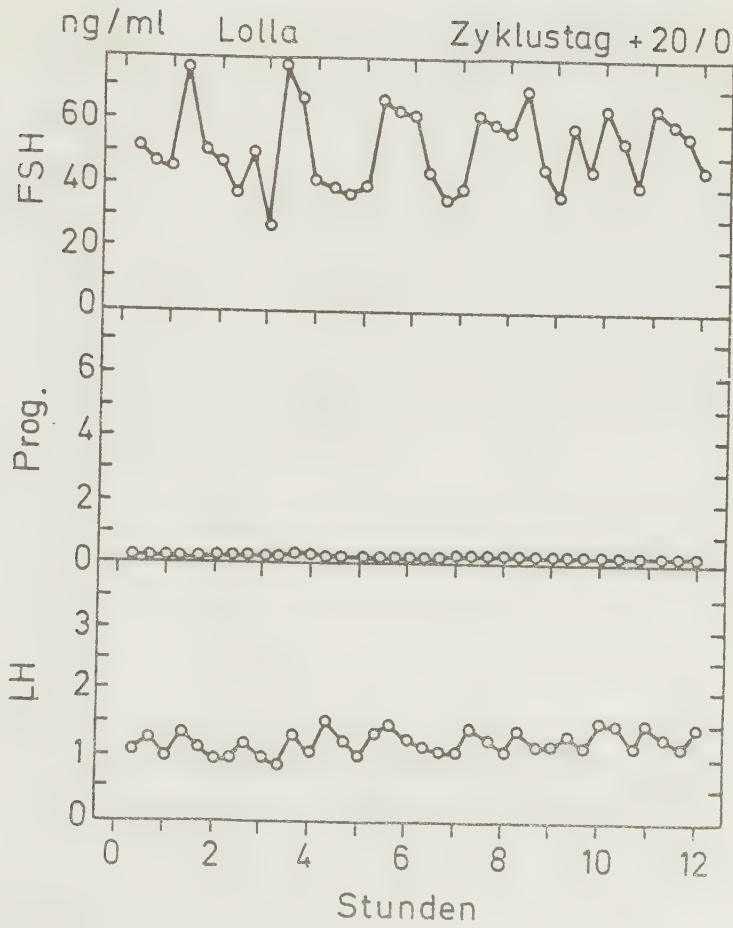
Die Progesteronkonzentration im Plasma liegt bei 0,2 ng/ml im Mittel.

Wesentliche Konzentrationsänderungen liegen nicht vor (s. Tabelle 25, Abbildung 31 ).

Tabelle 25

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 50,9 | 1,2  | 0,2         |
| +x                | 28,1 | 0,3  | 0,1         |
| -x                | 24,9 | 0,45 | 0,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 25,2 | 0,3  | ---         |
| +A                | 25,8 | 0,2  | ---         |
| -A                | 12,2 | 0,1  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 74   | 65   | ---         |
| +t                | 46   | 35   | ---         |
| -t                | 34   | 25   | ---         |

Abbildung 31



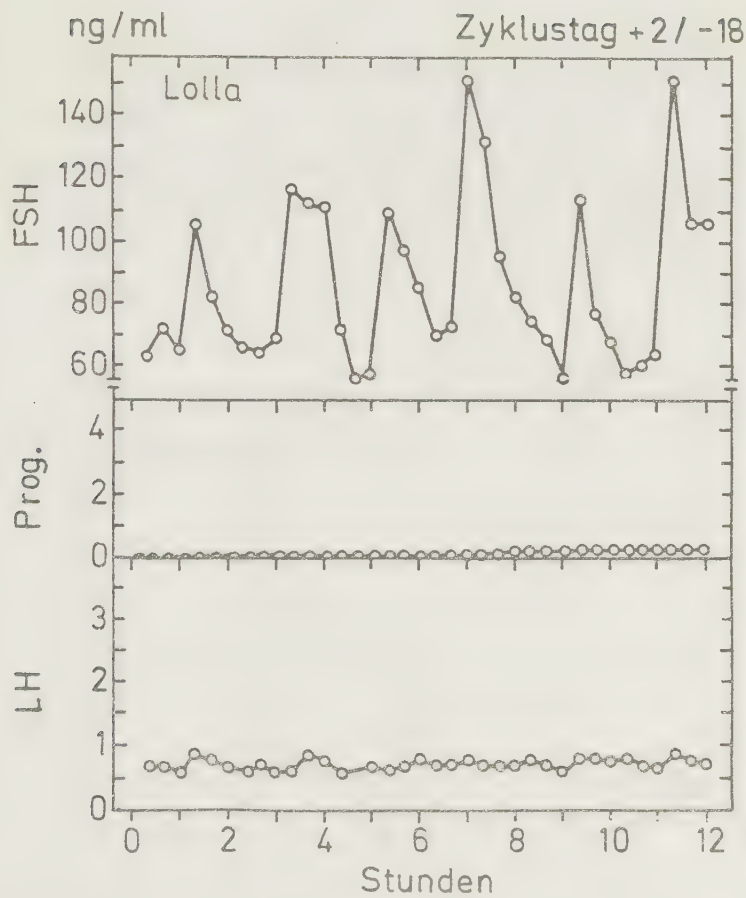
Tag + 2 bzw. - 18

Die mittlere Sekretionsrate des Progesterons liegt unverändert bei 0,2 ng/ml. Konzentrationssteigerungen über 0,1 ng/ml liegen nicht vor (s. Tabelle 26, Abbildung 32).

Tabelle 26

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 83,3 | 0,72 | 0,2         |
| +x                | 69,7 | 0,18 | 0,05        |
| -x                | 28,3 | 0,12 | 0,05        |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 49,7 | 0,3  | ---         |
| +A                | 40,7 | 0,1  | ---         |
| -A                | 30,7 | 0,1  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 120  | 103  | ---         |
| +t                | 20   | 37   | ---         |
| -t                | 80   | 23   | ---         |

Abbildung 32



Tag + 8 bzw. - 12

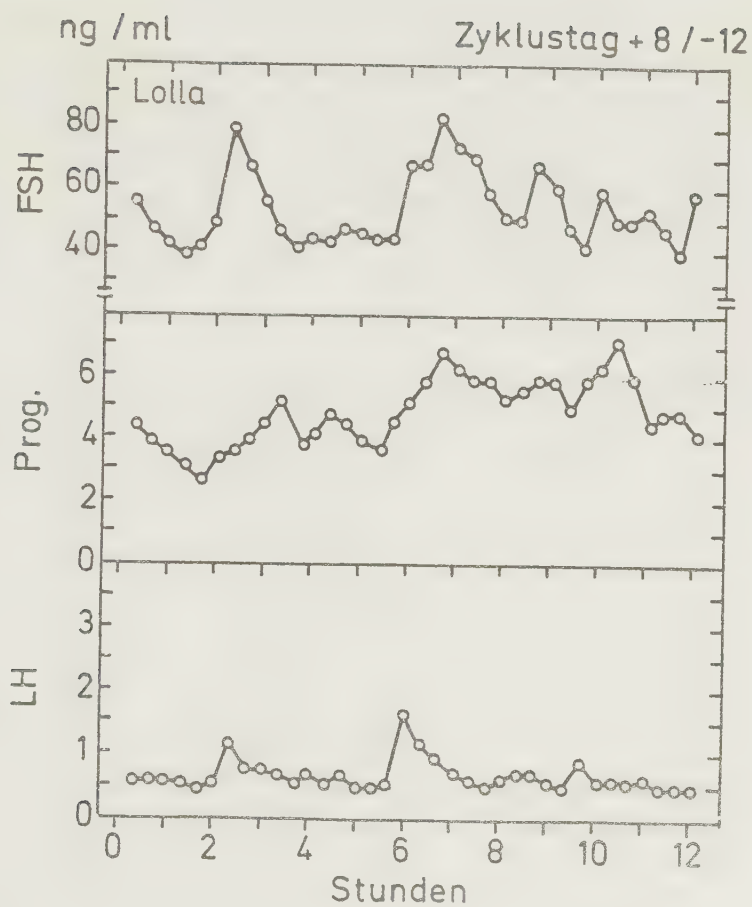
Die durchschnittliche Progesteronsekretion beträgt jetzt 5,0 ng/ml. Konzentrationssteigerungen erscheinen in einem mittleren Intervall von 120 min, wobei der Nettoanstieg im Durchschnitt 2,0 ng/ml erreicht.

Eine Kurzzeitschwankung des Progesterons folgt jeder pulsatilen LH- bzw. FSH- Ausschüttung, allerdings wird der Konzentrationsgipfel erst nach 20 - 60 min erreicht. Niedrigere FSH- Pulse, die unabhängig von einer LH- Freisetzung erfolgen, gehen auch hier mit einer Änderung der Progesteronsekretion einher (s. Tabelle 27, Abbildung 33).

Tabelle 27

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 53,7 | 0,67 | 5,0         |
| +x                | 19,3 | 1,03 | 2,2         |
| -x                | 14,7 | 0,17 | 2,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 25,0 | 0,75 | 2,0         |
| +A                | 18,0 | 0,45 | 1,1         |
| -A                | 8,0  | 0,35 | 1,3         |
| $\bar{t}$ (min)   | 116  | 220  | 120         |
| +t                | 144  | 0    | 60          |
| -t                | 56   | 0    | 60          |

Abbildung 33



Tag + 11 bzw. - 9

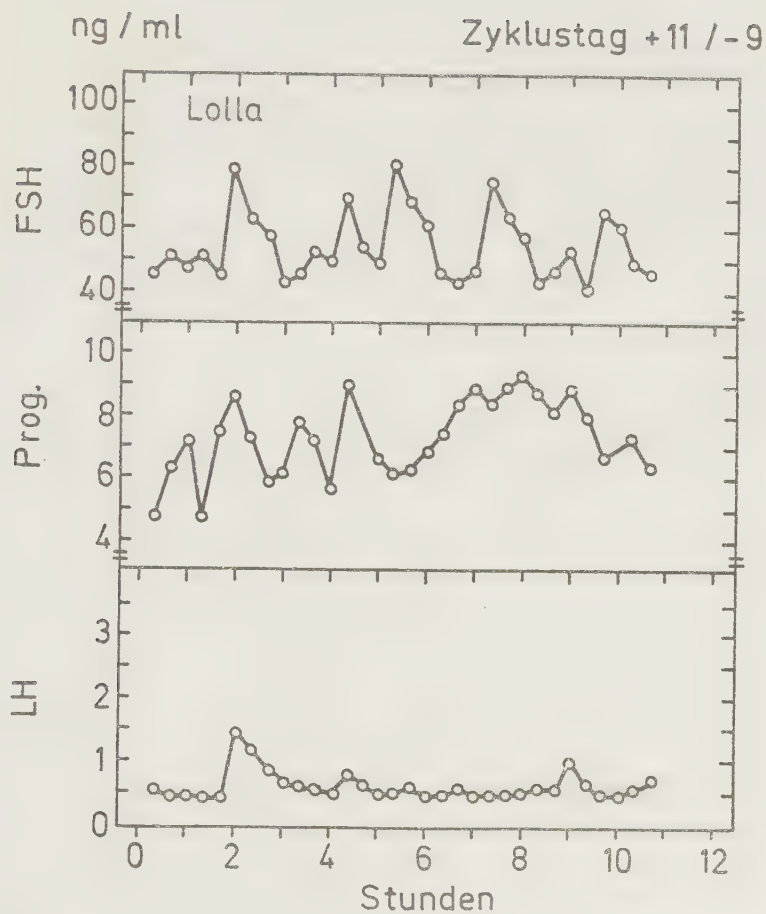
Die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma erreicht mit 7,3 ng/ml ihr Maximum während der Versuchstage. Die pulsähnliche Progesteronsekretion ändert zwar ihr mittleres Intervall (80 min) deutlich, nicht jedoch ihren Nettoanstieg (durchschnittlich 1,8 ng/ml).

Auf Grund der unterschiedlichen Pulsintervalle gilt auch in diesem Fall, daß zwar jeder LH- Puls mit einem FSH- Puls übereinstimmt, nicht jedoch umgekehrt. Progesteron weist erneut sowohl Beziehungen zur pulsatilen LH- als auch FSH- Ausschüttung auf (s. Tabelle 28, Abbildung 34 ).

Tabelle 28

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 48,0 | 0,63 | 7,3         |
| +x                | 32,0 | 0,9  | 2,0         |
| -x                | 8,0  | 0,13 | 2,8         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 21,0 | 0,7  | 1,7         |
| +A                | 14,2 | 0,3  | 2,2         |
| -A                | 15,0 | 0,45 | 1,1         |
| $\bar{t}$ (min)   | 92   | 210  | 80          |
| +t                | 48   | 70   | 80          |
| -t                | 52   | 70   | 20          |

Abbildung 34



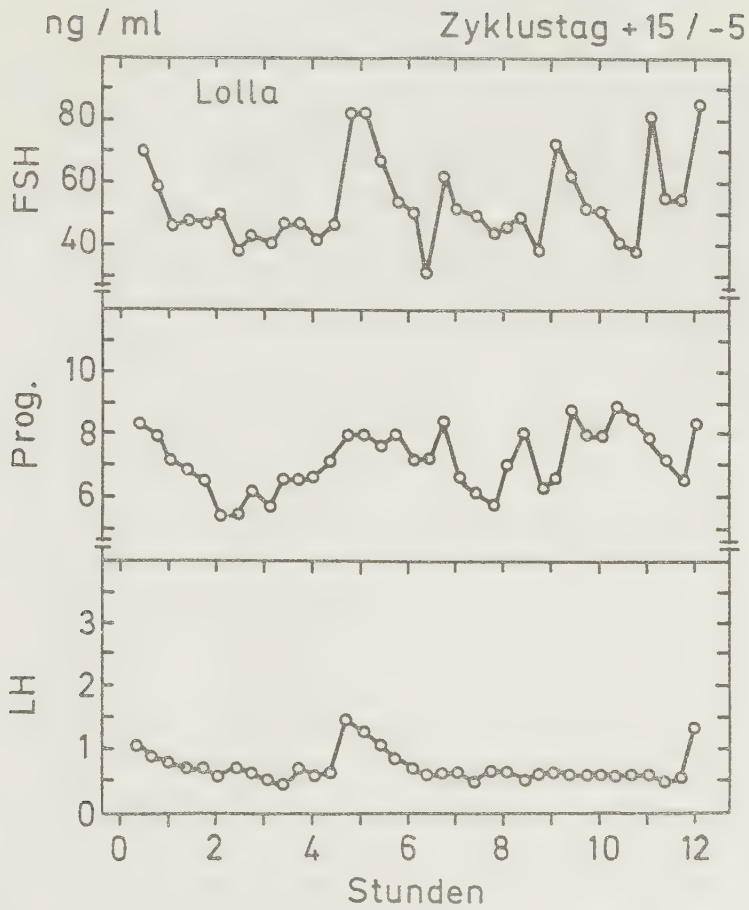
Tag + 15 bzw. - 5

Die mittlere Sekretionsrate des Progesterons behält weiter ihr hohes Niveau (7,2 ng/ml). Während der durchschnittliche Nettoanstieg nahezu unverändert bleibt (2,0 ng/ml), sinkt die Frequenz der Kurzschwankungen des Progesterons deutlich ab. Interaktionen zwischen den drei Hormonen sind wiederum feststellbar; Änderungen der Progesteronkonzentration zeigen sowohl einen Bezug zur diskontinuierlichen LH- als auch zur FSH- Freisetzung (s. Tabelle 29, Abbildung 35).

Tabelle 29

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 53,0 | 0,71 | 7,2         |
| +x                | 32,0 | 0,8  | 1,6         |
| -x                | 22,0 | 0,21 | 1,7         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 24,7 | 0,8  | 2,0         |
| +A                | 20,0 | 0,1  | 0,8         |
| -A                | 16,7 | 0,1  | 1,2         |
| $\bar{t}$ (min)   | 128  | 350  | 120         |
| +t                | 132  | 90   | 140         |
| -t                | 88   | 90   | 60          |

Abbildung 35



### Zusammenfassung Kalbin "Lolla"

Die Kalbin "Lolla" zeigt eine unerwartete Frequenzsteigerung der FSH- und Progesteron- Kurzzeitschwankungen während der Lutealphase, die jedoch nur vorübergehend auftritt.

Die Enthemmung des hypothalamischen "Zeitgeberzentums" durch die Luteolyse wird auch hier deutlich. Bis zum Eintritt der Lutealphase ergeben sich für FSH und LH ähnlich hohe Pulsfrequenzen, die an einen gemeinsamen Freisetzungsmechanismus denken lassen. Während der Lutealphase zeichnet sich jedoch ein anderes Bild ab; da hier FSH- und Progesteron-Pulsfrequenz nur geringfügig voneinander abweichen, ergibt sich in dieser Zeit ein sehr enger Bezug zwischen FSH- und Progesteronkurzzeitschwankungen (s. Tabelle 40).



### 3.6 Versuchstier "Butzl"

Alter bei Versuchsbeginn: 18 Monate

Zykluslänge: 20- 21 Tage

Tag 0?

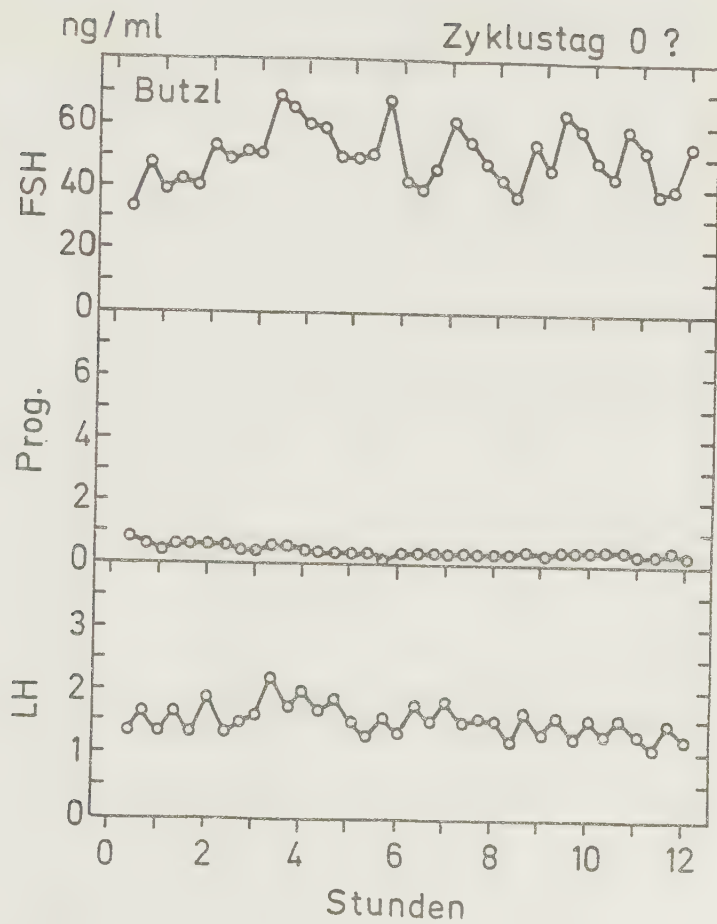
Die durchschnittliche Progesteronsekretion beträgt 0,4 ng/ml, leichte Konzentrationsänderungen können nicht als pulsähnliche Anstiege betrachtet werden (s. Tabelle 30, Abbildung 36).

Da der Zyklusstand bei diesem Tier nicht eindeutig festzustellen war, wurden die jeweiligen Versuchstage mit einem Fragezeichen versehen.

Tabelle 30

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 50,6 | 1,53 | 0,4         |
| +x                | 19,4 | 1,2  | 0,4         |
| -x                | 17,6 | 0,4  | 0,2         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 15,9 | 0,3  | ---         |
| +A                | 7,1  | 0,4  | ---         |
| -A                | 3,9  | 0,1  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 86   | 48   | ---         |
| +t                | 54   | 32   | ---         |
| -t                | 46   | 8    | ---         |

Abbildung 36



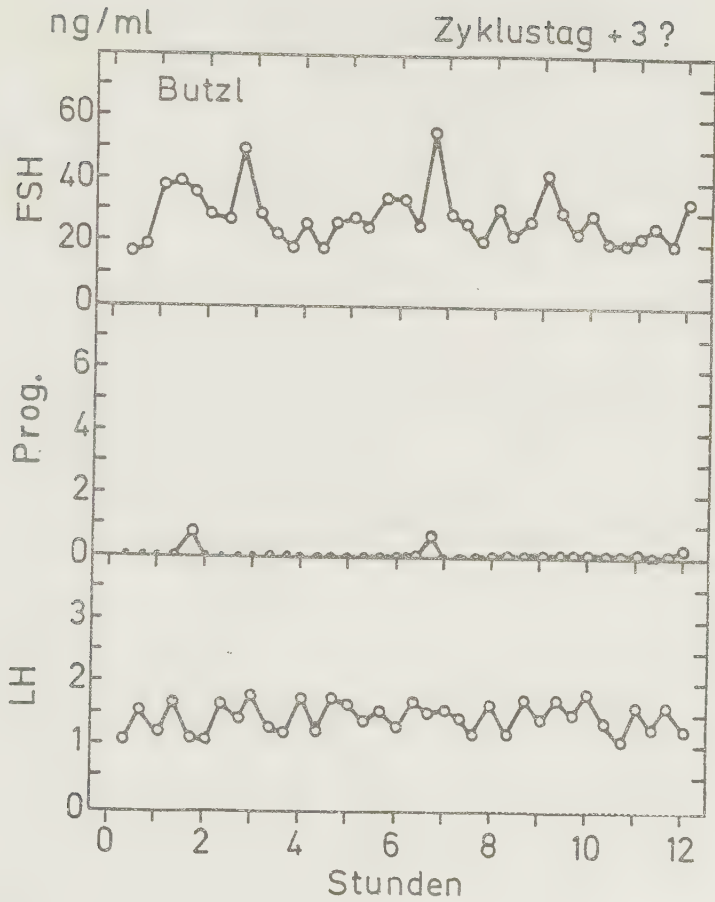
Tag + 3?

Im peripheren Plasma sinkt die mittlere Konzentration des Progesterons auf 0,2 ng/ml ab. Kurzfristige Anstiege sind zwar vorhanden, können jedoch nicht als pulsähnliche Schwankungen bezeichnet werden, da ein allmählicher Konzentrationsabfall fehlt (s. Tabelle 31, Abbildung 37 ).

Tabelle 31

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 29,0 | 1,47 | 0,2         |
| +x                | 16,0 | 0,43 | 0,6         |
| -x                | 12,0 | 0,37 | 0,1         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 15,1 | 0,45 | ---         |
| +A                | 14,9 | 0,15 | ---         |
| -A                | 8,1  | 0,25 | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 72   | 48   | ---         |
| +t                | 8    | 12   | ---         |
| -t                | 12   | 8    | ---         |

Abbildung 37



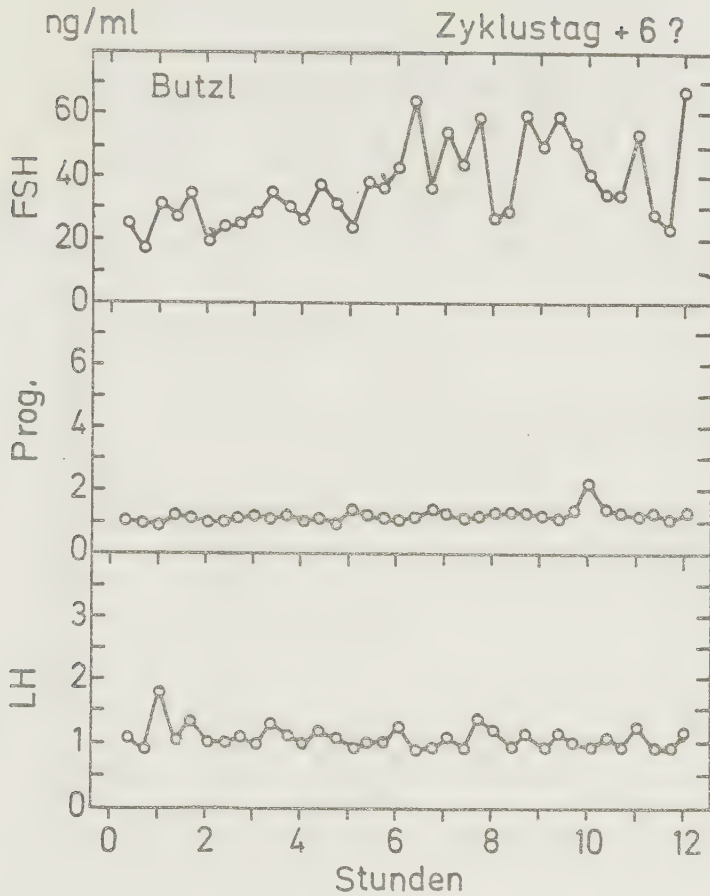
Tag + 6 ?

1,2 ng/ml beträgt jetzt die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma. Geringgradige Konzentrationsänderungen treten zwar schon auf, können jedoch nicht in einen Zusammenhang mit der FSH- bzw. LH- Sekretion gebracht werden (s. Tabelle 32, Abbildung 38 ).

Tabelle 32

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 38,0 | 1,08 | 1,2         |
| +x                | 27,0 | 0,7  | 1,0         |
| -x                | 21,0 | 0,18 | 0,3         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 19,8 | 0,3  | ---         |
| +A                | 25,0 | 0,6  | ---         |
| -A                | 10,8 | 0,1  | ---         |
| $\bar{t}$ (min)   | 55   | 55   | ---         |
| +t                | 45   | 45   | ---         |
| -t                | 15   | 15   | ---         |

Abbildung 38



Tag + 10?

Die Progesteronsekretion steigt zunächst auf 2,3 ng/ml an, fällt dann aber im zweiten Drittel des Versuchstages bis auf 0,1 ng/ml ab. Bis zum steilen Absinken der Konzentration sind Kurzzeitschwankungen erkennbar, deren Frequenz relativ hoch ist (80 min).

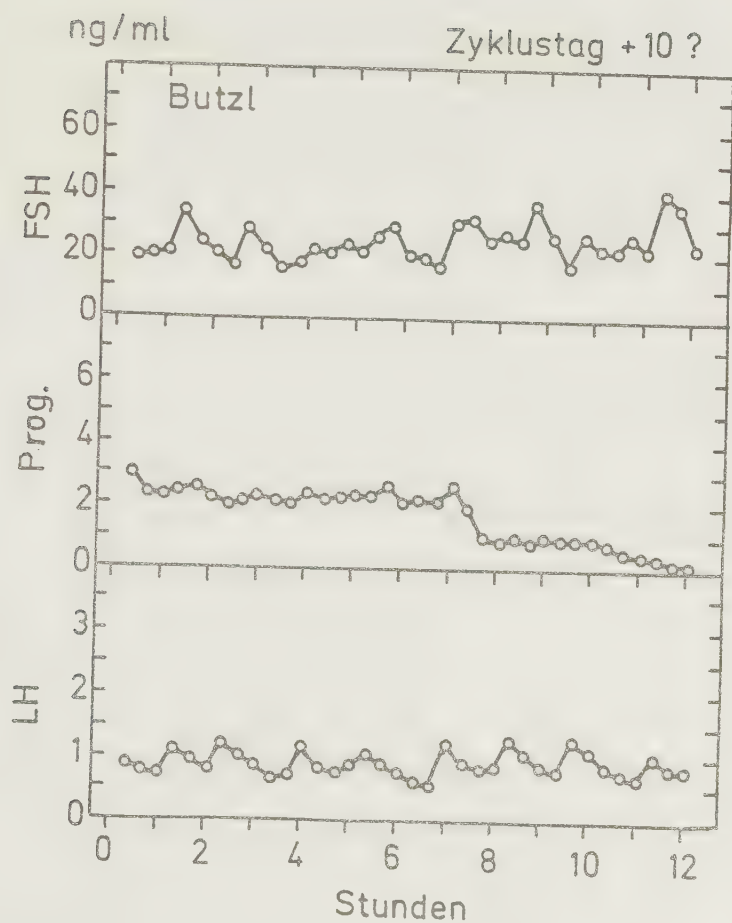
Wie bei anderen vorausgegangenen Beispielen besteht auch hier der gleiche enge Zusammenhang zwischen FSH- LH- und Progesteronfreisetzung (s. Tabelle 33, Abbildung 39 ).

Tabelle 33

|                   | FSH  | LH   | Progesteron      |
|-------------------|------|------|------------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 24,4 | 0,96 | 2,3 <sup>+</sup> |
| +x                | 16,6 | 0,5  | 0,7              |
| -x                | 9,4  | 0,36 | 2,2              |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 12,2 | 0,5  | 0,5              |
| +A                | 7,8  | 0,2  | 0,2              |
| -A                | 2,2  | 0,1  | 0,2              |
| $\bar{t}$ (min)   | 100  | 86   | 80               |
| +t                | 80   | 14   | 20               |
| -t                | 40   | 26   | 20               |

+ bis zum Absinken der Progesteronsekretion

Abbildung 39



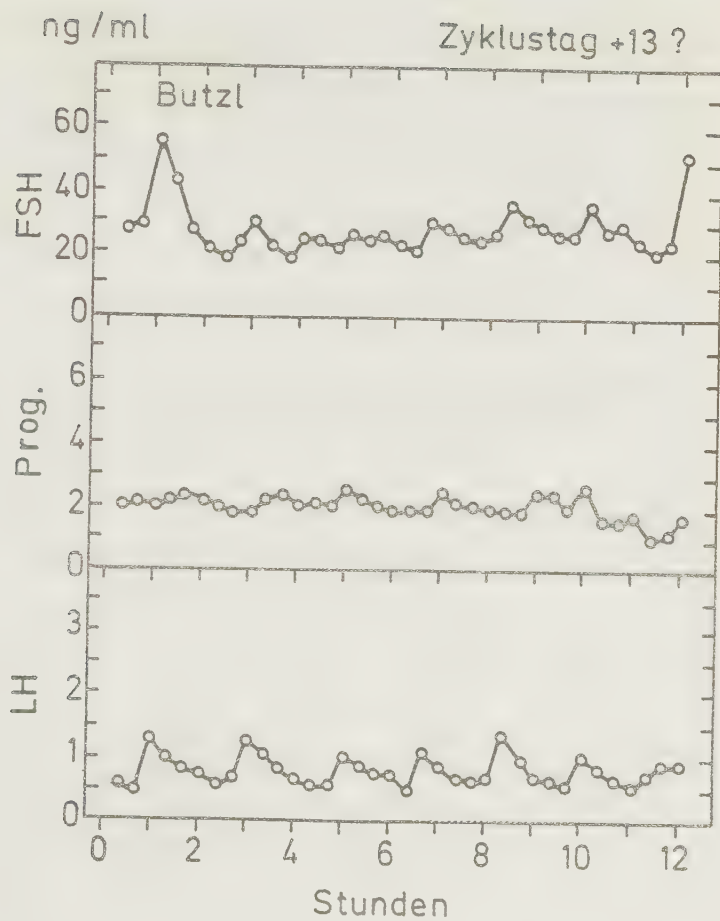
Tag + 13?

Die mittlere Progesteronsekretion steigt wieder auf 1,95 ng/ml an. Die Frequenz der Konzentrationsänderungen (104 min) vermindert sich vorübergehend. Der Nettoanstieg nimmt geringgradig zu. An diesem Versuchstag liegt eine nahezu völlige zeitliche Übereinstimmung von pulsatilen FSH- und LH- Freisetzen vor. Die Kurzzeitschwankungen des Progesterons zeigen eine zeitliche Verschiebung von 0- 40 min gegenüber den FSH- bzw. LH- Pulsen (s. Tabelle 34, Abbildung 40 ).

Tabelle 34

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 23,3 | 0,96 | 1,95        |
| +x                | 33,7 | 0,5  | 0,9         |
| -x                | 5,3  | 0,46 | 0,95        |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 15,0 | 0,6  | 0,7         |
| +A                | 18,0 | 0,3  | 0,2         |
| -A                | 8,0  | 0,2  | 0,3         |
| $\bar{t}$ (min)   | 110  | 110  | 104         |
| +t                | 30   | 10   | 16          |
| -t                | 10   | 10   | 44          |

Abbildung 40



Tag - 4?

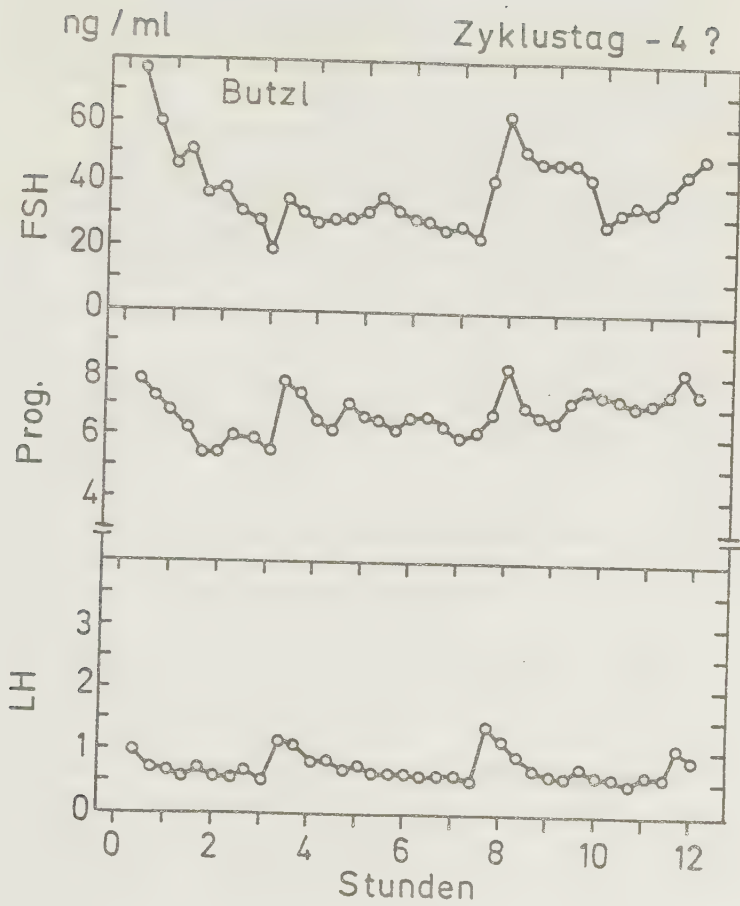
Die durchschnittliche Progesteronkonzentration beträgt 6,8 ng/ml. Mit dem zunehmenden mittleren Nettoanstieg (1,7 ng/ml ) steigt auch die Frequenz der Kurzzeitschwankungen leicht an (98 min im Mittel).

LH- und FSH- Pulse erscheinen gleichzeitig im Plasma. Jede ihrer Ausschüttungen wird in einem zeitlichen Intervall von 0- 20 min von einem Anstieg der Progesteronsekretion gefolgt (s. Tabelle 35, Abbildung 41).

Tabelle 35

|                   | FSH  | LH   | Progesteron |
|-------------------|------|------|-------------|
| $\bar{x}$ (ng/ml) | 38,2 | 0,74 | 6,8         |
| +x                | 41,8 | 0,66 | 1,5         |
| -x                | 19,2 | 0,24 | 1,4         |
| $\bar{A}$ (ng/ml) | 20,2 | 0,7  | 1,7         |
| +A                | 19,8 | 0,2  | 0,8         |
| -A                | 13,2 | 0,1  | 1,2         |
| $\bar{t}$ (min)   | 165  | 250  | 98          |
| +t                | 75   | 10   | 22          |
| -t                | 45   | 10   | 38          |

Abbildung 41



### Zusammenfassung Kalbin "Butzl"

Da das Tier "Butzl" einen gestörten Zyklusverlauf zeigt, erübrigt sich in diesem Fall eine weitere Interpretation der jeweiligen Versuchstage.

Im wesentlichen kommt jedoch auch hier zum Ausdruck, daß intensive Beziehungen zwischen den Gonadotropinen FSH und LH untereinander sowie zum Sexualhormon Progesteron bestehen.

Eine Störung des Zyklusgeschehens zeichnet sich am Tag + 10? ab, wobei eine unvollständige Luteolyse des Corpus luteum erfolgt sein könnte. An diesem Versuchstag wurde auch die Absonderung klaren Schleims beobachtet (undeutliche Brunstsymptome)(s. Tabelle 41).

#### 4. DISKUSSION

Die Kalbin "Butzl" wird in die folgende Diskussion nicht mit einbezogen, da die hormonanalytischen Befunde für eine Störung des Zyklusablaufes sprechen. Damit erscheint die vergleichende Betrachtung der Versuchsergebnisse bei diesem Tier nicht sinnvoll.

##### 4.1 Einfluß der Progesteronkonzentrationen im Plasma auf die LH- und FSH- Sekretion

###### 4.1.1 Zyklustage- 2 bis + 3

Soweit während dieses Zeitraumes Proben entnommen wurden, lagen die Progesteronkonzentrationen im Plasma zwischen 1,0 ng/ml (Tier "Rotina") und 0,2 ng/ml.

###### Pulsfrequenz

Ein Anstieg der pulsatilen Sekretion auf sehr hohe Frequenzen, die allerdings individuelle Unterschiede zeigen, ist ab Tag - 2 sowohl für FSH als auch für LH charakteristisch. Am Tag 0 erreicht die Pulsfrequenz beider Gonadotropine ihren Höhepunkt, wobei allerdings FSH in keinem Fall die höhere Pulsfrequenz des LH erreicht.

Im Gegensatz zu LH läßt sich bei der FSH- Sekretion kein Konzentrationsanstieg feststellen, der dem präovulatorischen LH- Gipfel ähnelt. Lediglich eine leichte Erhöhung der basalen Sekretionsrate ist vorhanden.

Bis Tag + 3 zeichnet sich bei drei von vier Tieren (Versuchstiere "Lolla", "Rotina" und "Rinette") eine signifikante Verminderung der Pulsfrequenz des FSH ab, obwohl ein Anstieg der Progesteronkonzentration im Plasma nur bei "Rotina" erkennbar ist (0,4 ng/ml). LH dagegen verlangsamt bis Tag + 3 nur bei zwei Tieren seine Frequenz (Versuchstiere "Rinette" und "Lolla").

#### Amplitudenhöhe

Bereits ab Tag -2 zeichnet sich eine Verminderung der Amplitude bei den Versuchstieren ab, was sowohl für LH als auch für FSH zutrifft.

In allen Fällen zeigte sich die geringste Pulshöhe am Tag 0. Bis Tag +3 steigen bei zwei von vier Tieren (Versuchstiere "Rotina" und "Lolla") die Amplitude des FSH wieder an. Für LH trifft dies nur bei einem Tier (Kalbin "Rotina") zu; allerdings liegt bei diesem Versuchstier auch eine Steigerung der basalen Progesteronsekretion von 0,1 auf 0,5 ng/ml vor, die für die Frequenzänderung und die Veränderung der Pulshöhe verantwortlich sein könnte. Ein Abfall der Pulshöhe ist in keinem Fall vorhanden.

#### Basalsekretion

Die Steigerung der LH- Basalsekretion nach der Lutolyse ist bei allen fünf Tieren deutlich ausgeprägt; ihr Maximum erreicht sie am Tag 0. FSH dagegen erreicht bei vier von fünf Tieren (ausgenommen Versuchstier "Lolla") ein Minimum seiner basalen Sekretionsrate.

Obwohl die mittlere Progesteronkonzentration im Plasma zwischen Tag 0 und Tag + 3 bei keinem Tier mehr als 0,5 ng/ml beträgt, fällt die LH- Basalsekretion bei allen vier Tieren ab, wogegen die basale FSH- Sekretion wiederum bei allen Tieren gesteigert wird.

Nur beim Tier "Rotina" läßt sich eine Steigerung der basalen Progesteronsekretion von 0,1 auf 0,5ng/ml nachweisen. Die beobachtete Frequenzminderung, die geringe Steigerung der Pulshöhe und die leicht zunehmende Basalsekretionsrate des FSH stehen einer nahezu unveränderten LH- Sekretion gegenüber. Eine Erklärung bedarf die Verminderung der basalen Sekretionsrate des LH vor einem meßbaren Anstieg der Progesteronsekretion, da hier nicht angenommen werden kann, daß bereits der Rückkopplungseffekt des Progesterons auf die LH- Freisetzung eingetreten ist. Es liegt nahe, aus den vorangegangenen Beobachtungen den Schluß zu ziehen, daß zwar wahrscheinlich LH dem Rückkopplungsmechanismus durch Progesteronwirkung auf die übergeordneten Zentren (Hypothalamus bzw. Hypophyse) unterliegt, nicht aber FSH.

Eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten von FSH und LH bezüglich Pulsfrequenz und Pulshöhe könnte die Änderung der Rezeptoraffinität der LH- produzierenden Zellen für GnRH sein. Möglicherweise liegt hier der Angriffspunkt einer Steuerung der LH- Freisetzung durch unterschiedliche Progesteronkonzentrationen im Plasma. Eine Änderung der HVL- Antwortfähigkeit bei Testosteron- Gabe wurde von Kao u. Weisz (1975) bei der männlichen Ratte festgestellt (s. unten), was vergleichend von Bedeutung sein könnte.

#### 4.1.2 Frequenzänderungen während der Lutealphase Tag + 4 bis - 3

Bei drei von fünf Tieren (Versuchstiere "Rinette", "Kona" und "Rotina") bewegt sich das FSH- Pulsintervall um einen individuellen Durchschnittswert, während bei den zwei weiteren Tieren eine vorübergehende Frequenzsteigerung (Tag - 9 "Lolla", Tag - 10 "Rodos") auftritt. Gemeinsam ist jedoch allen Tieren, daß die FSH- Pulsfrequenz bis zum Tag - 4 immer ein Mehrfaches der LH- Frequenz beträgt (das 1 1/2 bis 4fache).

Ab Tag - 4 gleicht sich die Pulsfrequenz des LH der des FSH an.

Bei drei von fünf Tieren (Versuchstiere "Rodos", "Lolla" und "Rinette") zeigen FSH- und Progesteronfrequenz ein ähnliches Verhalten, wobei sich Intervallschwankungen zwischen FSH und Progesteron von durchschnittlich  $\pm$  20 Minuten ergeben.

Bei den anderen zwei Tieren (Versuchstiere "Kona" und "Rotina") geht zunächst die pulsähnliche Freisetzung des Progesterons mit ähnlich niedrigen Frequenzen einher wie LH (bis Tag - 12/- 13), sie paßt sich dann aber (ab Tag - 6/- 8) den Kurzzeitschwankungen des FSH an, ohne daß damit eine Änderung der basalen Sekretionsrate des Progesterons verbunden ist.

Die Steigerung der Pulsfrequenz des Progesterons bei nahezu gleichbleibender Basalsekretion tritt bei vier von fünf Tieren vor bzw. mit einer Steigerung der LH- Pulsfrequenz auf (Versuchstiere "Rinette", "Rodos", "Rotina" und "Kona").

Da FSH nur während der Luteolyse einer größeren Frequenzänderung unterworfen ist, während der Lutealphase aber ständig in einem bestimmten Rahmen die Frequenz seiner Konzentrationsänderungen beibehält, ist anzunehmen, daß FSH- Pulsationen ebenfalls durch einen Feedback- Mechanismus gesteuert werden, der zwar nicht identisch mit dem Rückkopplungsmechanismus des Progesterons auf LH ist, aber mit diesem in einem Zusammenhang steht.

Shander et al. (1980) stellten fest, daß durch Zugabe von porcinem Follikel- Flüssigkeitsextrakt (FFE) zu HVL- Zellkulturen der Ratte die FSH- Sekretion unterdrückt wurde. Unterstellt man, daß Substanzen der Follikelflüssigkeit auch beim Rind diese Aufgabe zukommt, erklärt sich daraus einerseits die hohe Basalsekretion des FSH während der Lutealphase, da Progesteron antagonistisch auf die Follikelreifung wirkt, andererseits könnte die Follikelentwicklung vor der Ovulation ein negatives Feedback auf die FSH- Synthese bewirken, wodurch die extrem niedrigen FSH- Konzentrationen am Tag 0 sowie der frühe Anstieg der FSH- Basalsekretion nach der Ovulation (vor dem LH- Anstieg) eine Erklärung finden.

Progesteron ändert zum Teil bereits während der Lutealphase seine Frequenz, wogegen die LH- Pulsintervalle noch unverändert bleiben. Es ist daher anzunehmen, daß LH keinen Einfluß auf diese Frequenzänderung hat. Diese Rolle könnte nach den vorliegenden Ergebnissen eher dem FSH zugeordnet werden.

Schams et al. wiesen 1974 nach, daß unterschiedliche GnRH- Konzentrationen beim männlichen und weiblichen Rind die Freisetzung von LH und FSH beeinflussen können. Bei hoher GnRH- Konzentration im Blut tritt eine Reduktion der FSH- Sekretion (oder Freisetzung) ein, wogegen die LH- Ausschüttung davon unbeeinflusst bleibt. Knobil (1980) kam durch Untersuchungen am Rhesusaffen zu ähnlichen Ergebnissen.

Gleichzeitig stellten sie fest, daß eine Modulation der GnRH- Frequenz ebenfalls Auswirkungen auf die FSH- bzw. LH- Ausschüttung hat. Eine hohe Pulsfrequenz (5 Pulse pro Stunde) bewirkt bei beiden Gonadotropinen eine verminderte Freisetzung ins Blut, während bei größeren Pulsintervallen (1 Puls pro 3 Stunden) die FSH- Sekretion eine Steigerung, die LH- Freisetzung jedoch eine Verminderung erfährt. Eine Steuerung der Gonadotropin- Sekretion ist demnach sowohl durch Frequenz- als auch durch Konzentrationsänderungen des GnRH möglich.

Nach den vorangegangenen Darstellungen ist anzunehmen, daß weder die GnRH- Wirkung noch der Gonadotropineinfluß isoliert betrachtet werden darf. Wahrscheinlich führt erst die Koordination mehrerer Regulationszentren zur Überwachung des Zyklusablaufes.

#### 4.2 Zeitliche Beziehung zwischen LH- und FSH- Freisetzung

Bei der vorangegangenen Darstellung der Versuchsergebnisse einzelner Tiere wurde die enge zeitliche Beziehung zwischen LH- und FSH- Sekretion mehrmals betont.

Sie äußert sich in gleichzeitigen FSH- und LH- Pulsen, wobei in der Regel die FSH- Frequenz ein Mehrfaches der LH- Frequenz beträgt.

Diese Beobachtung bestätigt, daß GnRH als gemeinsames Releashingormon der zwei Gonadotropine anzusehen ist, obwohl die Steuerung der jeweiligen Pulsfrequenzen anderen Faktoren unterliegt. Möglicherweise ist hier die negative Feedback- Wirkung von Progesteron bzw. Östrogenen auf die Hypophyse das differenzierende Agens.

1975 stellten Kao u. Weisz in einem "in vitro" Versuch fest, daß Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten bei Zufuhr von Hypothalamus- Extrakten in zehnminütigen Intervallen mit einer FSH- bzw. LH- Ausschüttung reagierten. Bei Zugabe von Testosteron hingegen veränderte sich die Antwortfähigkeit der Hypophysenteile bezüglich FSH- und LH- Freisetzung, obwohl weiter in zehnminütigen Abständen Hypothalamus- Extrakte zugeführt wurden.

Geht man von einem bestimmten endogenen Pulsintervall der GnRH- Freisetzung aus, könnte die Regulation der unterschiedlichen Frequenzen über eine Änderung der Rezeptoraffinität der FSH- bzw. LH- produzierenden Zellen für GnRH auch beim weiblichen Rind erfolgen. Damit wäre über eine Beeinflussung des Freisetzungsmechanismus der Gonadotropine eine Rückkopplung durch die organotropen Hormone denkbar.

#### 4.3 Zeitlicher Bezug zwischen Gonadotropin- und Progesteronfreisetzung

Die vorliegenden Ergebnisse lassen keinen Zweifel zu, daß beim Rind die pulsatile Freisetzung der Gonadotropine auch eine pulsähnliche Freisetzung des Progesterons bewirkt. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Ergebnissen, die 1976 von Baird et al. für das Schaf veröffentlicht wurden. Damals konnten die Autoren keine deutliche Beziehung zwischen LH- und Progesteronkurzzeitschwankungen erkennen.

Da die zeitliche Differenz zwischen dem Gonadotropin- Puls und dem Progesteronanstieg im peripheren Plasma durchschnittlich nur zwanzig Minuten (0- 60 min) beträgt, erscheint es unwahrscheinlich, daß die Kurzzeitschwankungen des Progesterons auf Grund einer plötzlich ansteigenden Rate der Neusynthese entsteht. Es ist anzunehmen, daß LH bzw. FSH nicht nur auf die Progesteronsynthese Einfluß nehmen, sondern auch auf den Freisetzungsmechanismus des Hormons aus der Zelle. Dabei bleibt offen, wie dieser Freisetzungsmechanismus im Einzelnen abläuft (Carrier, Zellpermeabilität).

1978 veröffentlichten Schams et al. eine Arbeit, in der die zeitliche Beziehung zwischen LH- und Testosteronpulsatilität beim Bullen dargestellt wird. Sie beschreiben darin das Auftreten von Kurzzeitschwankungen des Testosterons  $20 \pm 6$  min nach den LH-Pulsen.

Ähnliche Ergebnisse fanden Lincoln u. Short für die Testosteronfreisetzung auf LH- Pulse 1980 bei Schafböcken. Sie stellten auch fest, daß die Pulshöhe der Testosteronfreisetzung dabei im wesentlichen von der zellulären Aktivität und nicht von der Höhe des

LH- Pulses abhängt.

Führt man sich die allmähliche Anbildung des Corpus luteum beim weiblichen Tier vor Augen, so ist auch hier eine Steigerung der gesamten Aktivität aller progesteronproduzierenden Zellen durch das Wachstum des Corpus luteum vorhanden.

Da die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß mit wachsendem Corpus luteum auch eine Steigerung der Konzentrationsveränderungen eintritt, sind bei gleichbleibenden LH- Amplituden niedrigere Pulshöhen des Progesterons in der Anbildungsphase des Corpus luteum als eine zelluläre Limitation der Produktions- und Freisetzungskapazität anzusehen (betrifft die Versuchstiere "Kona", "Rodas" und "Rinette").

Auffällig bei allen untersuchten Tieren ist jedoch, daß die pulsatile Progesteronfreisetzung in vielen Fällen sowohl einem LH- als auch einem FSH- Puls folgt.

Auf Grund der höheren FSH- Frequenz während der Lutealphase tritt dieser Umstand besonders hervor. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang, daß möglicherweise FSH den Freisetzungsmechanismus des Progesterons aus der Zelle beeinflusst, während LH im wesentlichen die Syntheseleistung reguliert.

Damit würde von der These Gebrauch gemacht werden, daß mehrere Hormone gleichzeitig eine Zelle beeinflussen können (Karlson 1974).

Um diese Vermutung zu belegen, müßten allerdings weiterführende Untersuchungen durchgeführt werden.

#### 4.4 Kurzzeitschwankungen des Progesterons

Allein die mittlere Konzentrationsschwankung des Progesterons während eines Versuchstages beträgt bis zu 4,35 ng/ml Blutplasma (Versuchstier "Rinette", Zyklustag 18).

Daraus erhebt sich die Frage, in welchem Rahmen einmalige Blutentnahmen am Tag einen repräsentativen Meßwert der Progesteronsekretion erfassen können. Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist zu entnehmen, daß während der Lutealphase ein bestimmter Basiswert der Progesteronkonzentrationen nicht unterschritten wird. Eine Bestimmung des Zyklusstandes und eine Beurteilung der Gelbkörperfunktion während der Gravidität ist demnach möglich, eine Aussage über die wahre Sekretionsrate jedoch nicht.

Die Progesteronbestimmung in der Milch ist anders zu interpretieren, da mit dem jeweiligen Gemelk eine durchschnittliche Progesteronausscheidung mit der Milch repräsentiert wird.

#### 4.5 Beziehung zwischen Kurzzeitschwankungen und Tageszeit

Um eine möglicherweise vorhandene Beziehung der Gonadotropin- oder Sexualhormon- Kurzzeitschwankungen zur Tageszeit (Hell- Dunkel- Rhythmus, Fütterung) aufzudecken, wurden die ermittelten durchschnittlichen Konzentrationen des jeweiligen Hormons während der Versuchstage miteinander verglichen.

Dabei stellte sich heraus, daß auf Grund der häufigen Frequenzänderungen des betreffenden Hormons kein eindeutiger Bezug der Konzentrationsänderungen zum Tagesrhythmus erkennbar war.

Teilweise auftretende Übereinstimmungen von Kurzzeitschwankungen zu einer bestimmten Tageszeit müssen daher als Zufallsbefund gewertet werden.

## ZUSAMMENFASSUNG

Sechs Kalbinnen im Alter von 18- 23 Monaten wurden in zwanzigminütigem Abstand jeweils zwölf Stunden lang alle fünf bis sechs Tage während eines Brunstzyklus Blutproben aus der Vena jugularis entnommen. Die Bestimmung von Progesteron wurde nach dem von Hoffmann, Kyrein und Ender (1973) beschriebenen Radioimmuntest durchgeführt.

LH- und FSH- Daten wurden für die Auswertung im Rahmen dieser Arbeit zur Verfügung gestellt.

Es stellte sich heraus, daß kurzzeitige pulsatile LH- und FSH- Freisetzen bei gleicher Frequenz zeitlich übereinstimmend auftreten. Daneben können aber zusätzliche FSH- Anstiege zwischen diesen zeitlich übereinstimmenden parallelen LH- und FSH- Ausschüttungen aufgezeigt werden. Bei 69% der auftretenden parallelen LH- und FSH- Freisetzen während der Lutealphase besteht eine Beziehung zur gesteigerten Progesteronfreisetzung, 70% der FSH- Pulse weisen jedoch ebenfalls eine entsprechende Korrelation auf. Die Progesteronfreisetzen folgen den pulsatilen Gonadotropinschwankungen in einem durchschnittlichen zeitlichen Abstand von 20 Minuten (0- 60 min) nach.

Die schwankenden Progesteronspiegel im peripheren Plasma sind eventuell die Folge der kurzzeitigen Veränderungen der LH- und FSH- Freisetzen.

Die Gonadotropinsekretion kann möglicherweise sowohl eine Neusynthese als auch den Freisetzungsmechanismus beeinflussen.

Auf Grund der zeitlichen Übereinstimmung von LH- und FSH- Freisetzen auch bei unterschiedlicher

Frequenz wird die von der derzeitigen Auffassung ausgegangen, daß ein gemeinsames Releasinhormon existiert. Es liegt entweder eine unterschiedliche Sensibilität der FSH- und LH- produzierenden Zellen des HVL für GnRH vor, und / oder es besteht eine unterschiedliche Feedback- Wirkung der ovariellen Steroide auf diese Zellen.

Eine einmalige Blutentnahme gibt Aufschluß über die Funktionsfähigkeit eines Corpus luteum, aber es berücksichtigt nicht die sicherlich vorhandenen Kurzzeitschwankungen des Progesterons, die bei höheren Mittelwerten (ca. 10 ng/ml) über 4 ng/ml Blutplasma betragen können.

Diese Konzentrationsänderungen sind unabhängig von Tages- und Fütterungszeit.

## ABSTRACT

Jugular vein blood samples were collected in 20 minute intervals during 12 hours from six heifers aging 18- 23 months. This sampling procedure was repeated every 5- 6 days throughout an oestrous cycle.

Progesterone was determined radioimmunologically according to Hoffmann, Kyrein and Ender (1973).

I was allowed to use the already determined LH and FSH data for comparative interpretations.

Short- term fluctuations of LH and FSH secretion occur usually at the same time. But there can be an additional FSH release in between these parallel pulses. 69 % of LH pulses are related to an increasing progesterone secretion, but also 70% of FSH- fluctuations correlate with a short- term variation of progesterone. The progesterone increase had an average delay of 20 minutes with a range of 0- 60 minutes. The results of the present study indicate that the varying progesterone concentrations in peripheral plasma are a result of short- term LH and FSH fluctuations.

The secretion of the gonadotropins might induce a de novo synthesis of progesterone as well as its release.

These results are supporting the theory of a common releasing- hormone for both gonadotropins even when there are more FSH than LH pulses. There can be either a different sensibility of the pituitary cells producing LH or FSH for the stimulatory actions of GnRH or a different effect of the positive and / or

negative feedback of ovarian steroids on these cells. A single blood plasma or serum sample represents the presence or absence and the functional status of the corpus luteum. In addition to this considerable short- term variations are occurring.

At higher average values of progesterone ( $\geq 10$  ng/ml blood plasma or serum) the short- term variations can exceed 4 ng/ml.

These progesterone fluctuations seem to be independent of influences like the feeding rhythm and the time of day.

LITERATURVERZEICHNIS

- Abraham G. E., Hopper K., Tulchinsky K., Schwerd-  
loff R. S. and Odell W. D. (1971)  
Simultaneous mesurement of plasma progesterone,  
17- hydroxyprogesterone and estradiol- 17 $\beta$   
by radioimmunoassay  
Analyt. Letters 4, 325- 335
- Aschoff, J. (1954)  
Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik  
Die Naturwissenschaften 44, 49- 56
- Baird D. T., Swanston J. and Scaramuzzi R. J.  
(1976)  
Pulsatile release of LH and secretion of  
ovarian steroids in sheep during the luteal  
phase of the estrous cycle  
Endocrinology 98, 1490- 1496
- Baird D. T., Goding J. R., Ichikawa Y. and McCracken  
J. A. (1968)  
The secretion of steroids from the autotrans-  
planted ovary in the ewe spontaneously and  
in response to systemic gonadotropin  
J. Endocr. 42, 283- 299
- Barracclough C. A., Colln R., Massa R. and Martini L.  
(1971)  
Temporal interrelationships between plasma LH,  
ovarian secretion rates and peripheral plasma  
progesterin concentrations in the rat: effects  
of Nembutal and exogenous gonadotropins  
Endocrinology 88, 1437- 1447

Paulieu J.- E. (1975)

Some aspects of the mechanism of action of  
steroid hormones  
Molecular and Cellular Biochemistry, 7 157- 174

Beck T. W. and Convey E. M. (1977)

Estradiol control of serum luteinizing hormone  
concentrations in the bovine  
Journal of Animal Science, 45, 1096- 1101

Catt K. J., Harwood J. P., Clayton R. L., Davies T.F.,  
Chan V., Katikineni M., Nozu K and Dufau M. L.  
(1980)

Regulation of peptide hormone receptors and  
gonadal steroidogenesis  
Recent Progress in Hormone Research, Academic  
Press, 36, 557 - 622

Clark J. H., Peck J. J. and Glasser S. R. (1977)  
Action of sex steroid hormones in the female  
Reproduction of Domestic Animals, H. H. Cole  
and F. T. Cupps, Academic Press, 166- 169

Convey E. M., Beck T. W., Neitzel R. R., Bostwick  
E. F. and Hafs H. D. (1977)

Negative feedback control of bovine serum  
luteinizing hormone (LH) concentration from  
completion of the preovulatory LH surge until  
resumption of luteal function  
J. Animal Science 46, 792- 796

Donaldson L. E., Bassett J. M. and Thorburn G. D.  
(1970)

Periperal plasma progesterone concentration  
of cows during puberty, estrous cycles, preg-  
nancy and lactation and the effects of under-  
nutrition or exogenous oxytocin on progeste-  
rone concentration

Endocrinology 48, 599- 614

Dowd A. J., Barofsky A.- L., Chandhuri N., Lloyd  
C. W. and Weisz J. (1975)

Patterns of LH and FSH release from perfused  
rat pituitaries in response to infusions of  
hypothalamic extract

Endocrinology 96, 243- 253

Edelmann I. S. (1975)

Mechanism of action of steroid hormones

Journal of Steroid Biochemistry, 6, 147-159

Forth W., Henschler D. und Rummel W. (1977)

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und  
Toxikologie, Wissenschaftsverlag

S. 52, 53, 99, 100, 150- 152

Goodman R. L., and Karsch F. J. (1980)

Pulsatile secretion of luteinizing hormone:  
differential suppression by ovarian steroids

Endocrinology, 107, 1286- 1299

Goodman R.L., Karsch F. J. (1981)

Control of seasonal breeding in the ewe-  
importance of changes in response to sex-  
steroid- feedback

Seasonal reproduction in higher vertebrates

Progress in Reproductive Biology, 5

Edt. R. J. Reiter, B. K. Follett

S. Karger AG (Basel)

Günzler, O., Korndörfer L., Lohoff H., Hamburger R.  
und Hoffmann B. (1975)

Praktische Erfahrungen mit der Progesteronbe-  
stimmung in der Milch zur Erfassung des Fer-  
tilitätszustandes bei der Kuh

Tierärztliche Umschau 30, 111- 117

Günzler O., Rattenberger E., Görlach A., Hahn R.,  
Hocke P., Claus R. u. Karg H. (1979)

Milk progesterone determination as applied  
to the confirmation of oestrus, the detection  
of cycling and as an aid to veterinarian and  
biotechnical measures in cows

Br. vet. J., 135, 541- 554

Hansel, W., Concannon P. W. and Lukaszewska J. H. (1973)

Corpora lutea of the large domestic animals

Biology of Reproduction 8, 222- 246

Hanson F. W., Powell J. E. and Stevens V. C.

(1971)

Effects of hCG and human pituitary LH on steroid secretion and functional life of the human corpus luteum

J. Clin. Endocr. Metab. 32, 211- 215

Harms P. G. and Malven P. V. (1969)

Modification of bovine luteal function by exogenous oxytocin and progesterone

Journal of Animal Science, 29, 25- 29

Hausler C. L. and Malven P. V. (1976)

Interaction of progesterone, GnRH and estradiol in the control of LH release in castrate heifers

Journal of Animal Science, 42, 1239- 1243

Henricks D. M. and Mayer D. T. (1977)

Gonadal hormones and uterine factors

Reproduction in Domestic Animals, H. H. Cole and P. T. Cupper, Academic Press, New York

S. 89, 90, 104

Hoffmann B. (1972)

Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind; Entwicklung von Meßverfahren und physiologische Daten

Habilitationsschrift, Fakultät für Landwirtschaft, TU München- Weihenstephan

Hoffmann B., Kyrein H. J. and Ender M. . (1973)

An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunoassay applied to bovine periperal plasma

Hormone Research 4, 302- 310

- Hoffmann B. und Hamburger R. (1973)  
Progesteron in der Milch: radioimmunologische  
Bestimmung, Beziehungen zur Gelbkörperfunktion  
und Milchfettkonzentration  
Zuchthygiene 8, 154- 162
- Hoffmann B., Wagner W. C., Rattenberger E. and  
Schmidt J. (1977)  
Endocrine relationships during late gestation  
and parturition in the cow  
The Fetus and Birth, Ciba Foundation Symposium  
47, 107- 125
- Hutterer G. (1981)  
Pulsatile LH- Sekretion beim Rind post partum  
Diplomarbeit, Fakultät für Landwirtschaft,  
TU München- Weihenstephan
- Kao L. W. L. and Weisz J. (1975)  
Direct effect of testosterone and its 5 -  
reduced metabolites on pituitary LH and FSH  
release in vitro: change in pituitary respon-  
siveness to hypothalamic extract  
Endocrinology 96, 253- 260
- Karg H. und Schams D. (1968)  
Anwendung der LH- Bestimmung im Blutserum  
von Kühen zur Kontrolle der endokrinen Reak-  
tion nach Gestagenbehandlung  
VI. Cong. Intern. Reprod- Anim. Insem. Artif.  
Paris, 1, 665- 667
- Karg H., Schams D., Hoffmann B. und Claus R. (1979)  
Neue Erkenntnisse der Endokrinologie der  
Fortpflanzung  
Der praktische Tierarzt, 60, 561- 572

Karg H. (1982)

Regulation der Sexualfunktionen

in: Grunert E. und Berchtold M., Fertilitätsstörungen  
beim weiblichen Rind, Paul Parey, Berlin

Karlson P., (1974)

Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und

Naturwissenschaftler, G. Thieme Verlag Stuttgart  
S. 223- 225 , 317 u. 318

Kazama N. and Hansel W. (1970)

Preovulatory changes in the progesterone level  
of bovine periperal blood plasma  
Endocrinology 86, 1252- 1256

Knobil E. (1980)

Neuroendocrine control of the menstrual cycle  
Recent Progress in Hormone Research 36  
Academic Press, S. 85, 55, 56

Knobil E. (1981)

Patterns of hypophysiotropic signals and go-  
nadotropin secretion in the rhesus monkey  
Biology of Reproduction 24, 44- 49

Kuhl H. and Baumann R. (1981)

New aspects of the physiological significance  
of LRH receptors of pituitary plasma membranes  
Acta Endocrinologica 96, 36- 45

Lamond D. R., Henricks D. M., Hill J. R. and

Dickey J. F. (1971)

Breed differences in plasma progesterone con-  
centration in the bovine during proestrus  
Biology of Reproduction 5, 258- 261

- Lincoln G. A. and Short R. V. (1980)  
Seasonal breeding: nature's contraceptive  
Recent Progress in Hormone Research, Academic  
Press, 36, 1- 43
- Mc Cracken, J. A., Glew M. E. and Scaramuzzi R. J.  
(1970)  
Corpus lueum regression induced by prosta-  
glandin F<sub>2</sub>/  
J. Clin. endocr. 30, 544- 546
- Hills R. C. and Morrisette M. C. (1970)  
Progesterone syntheses by perfused bovine  
ovaries of early and late pregnancy  
J. Reprod. Fert. 22, 435-440
- Hoon Y. S., Dorrington J. H. and Armstrong B. T.  
(1975)  
Stimulatory action of FSH on estradiol- 17<sup>β</sup>-  
secretion by hypophysectomized rat ovaries in  
organ culture  
Endocrinology 97, 244- 247
- Murdoch R. N. and White I. G. (1968)  
The effect of estradiol and progesterone on  
the activity of enzymes in the endometrium  
and caruncles of the ovariectomized ewe  
J. Endocrinology 42, 187- 192
- Oerterer U. (1980)  
Zur pulsatilen Sekretion des Luteinisierungs-  
hormons während des Brunstzyklus beim Rind  
Diplomarbeit, Fakultät für Landwirtschaft,  
TU München- Weihenstephan

- O'Malley B. W. and Schrader W. T. (1976)  
The receptors of steroid hormones  
Scientific American Febr. 1976, S. 32- 43
- Pope G. S., Gupta S. K. and Munro I. B. (1969)  
Progesterone levels in the systemic plasma  
of pregnant, cycling and ovariectomized cows  
J. Reprod. Fert. 20, 369- 381
- Radford H. M., Wheatley I. S. and Wallace A. L. L.  
(1969)  
The effects of oestradiol benzoate and progesterone on secretion of luteinizing hormone in the ovariectomized ewe  
J. Endocr. 44 , 135- 136
- Roche J. F. and Ireland J. J. (1981)  
The differential effect of progesterone on concentrations of luteinizing hormone and follicle- stimulating hormone in heifers  
Endocrinology 108, 568- 572
- Rüsse M. (1968)  
Zur vegetativen Regulation des Myometriums  
Zeitschrift für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie, 84, 307- 318
- Scaramuzzi K. J., Tillson S. A., Thorncroft L. H. and Caldwell B. V. (1971)  
Action of exogenous progesterone and estrogen on behavioral estrus and luteinizing hormone levels in the ovariectomized ewe  
Endocrinology 88, 1184- 1189

Schallenberg E. and Peterson A. J. (1982)

Effect of ovariectomy on tonic gonadotrophin secretion in cyclic and post- partum dairy cows

J. Reprod. Fert. 64, 47- 52

Schallenberg E. (1977)

Radioimmunologische Follicotropin (FSH)- Bestimmungen beim Rind- methodische Entwicklungsarbeiten und physiologische Ergebnisse  
Dissertation, Fakultät für Tiermedizin  
Universität München

Schams D., Gombe S., Schallenberg E., Reinhardt V. and Claus R. (1978)

Relationships between short- term variations of LH, FSH, prolactin and testosterone in peripheral plasma of prepubertal bulls

J. Reprod. Fert. 54, 145- 148

Schams D., Schallenberg E., Hoffmann B. and Karg H. (1977)

The oestrous cycle of the cow: hormonal parameters and time relationships concerning oestrous, ovulation and electrical resistance of the vaginal mucus

Acta Endocrinologica 86, 180- 192

Schams D. and Schallenberg E. (1976)

Heterologous radioimmunoassay for bovine follicle-stimulation hormone and its application during the oestrous cycle in the cattle

Acta Endocrinologica 81, 461- 473

- Schams D., Höfer F., Schallenberger E., Hartl M.  
and Karg H. (1974)  
Pattern of luteinizing hormone (LH) and follicle  
stimulating hormone (FSH) in bovine blood  
plasma after injection of a synthetic gonado-  
tropin- releasing hormone (GnRH)  
Theriogenology, 1, 137- 151
- Schilling G. A., Pols- Valkhof N. and Koiter T. R.  
(1981)  
An investigation into the origin of the pro-  
oestrus/ oestrus change in pituitary respon-  
siveness to LRH of the pseudopregnant rat  
Acta Endocrinologica, 96, 301- 308
- Shander D., Anderson L. D., Barraclough C. A. and  
Channing C. P. (1980)  
Interactions of porcine follicular fluid with  
ovarian steroids and luteinizing hormone- re-  
leasing hormone on the secretion of luteinizing  
hormone and follicle- stimulationg- hormone  
by cultured pituitary cells  
Endocrinology 106, 237- 243
- Short R. E., Randel R. D., Staigmiller R. B. and  
Bellows R. A. (1979)  
Factors affecting estrogen- induced LH- release  
in the cow  
Biology of Reproduction 21, 683- 689
- Snook R. B., Saatmann R. R. and Hansel W. (1971)  
Serum progesterone and luteinizing hormone  
levels during the bovine estrous cycle  
Endocrinology 88, 678- 687

- Soper B. D. and Weick R. F. (1980)  
Hypothalamic and extrahypothalamic mediation  
of pulsatile discharges of luteinizing hormone  
in the ovariectomized rat  
Endocrinology 106, 348- 355
- Stabenfeldt G. H., Ewing L. L. and McDonald L. E.  
(1969)  
Peripheral plasma progesterone levels during  
the bovine estrous cycle  
J. Reprod. Fert. 19, 433- 442
- Thibier M. et Saumande J. (1974)  
Concentrations plasmatiques de la 17 $\alpha$  hydroxy-  
progesterone au cours de la phase folliculaire  
de la vache  
Etude par prélèvements fréquentes  
Comptes rendus des Séances de la Société de  
Biologie, Extrait du tome 168, pp. 1186
- Träger L., (1977)  
Steroidhormone, Biosynthese, Stoffwechsel und  
Wirkung  
Springer- Verlag Berlin, S 184
- Trams G., Brewitt H., Möllmann H. and Maas H. (1973)  
Effect of progesterone on RNA and proteinsynthe-  
sis in the rat uterus  
Acta Endocrinologica 73, 740- 750
- Trams G., Raese J. and Maass H. (1973)  
Autoradiographic studies on the influence of  
gestagens on oestrogen- induced incorporation  
of <sup>3</sup>H- uridine and <sup>3</sup>H- thymidine into nucleic  
acids of the rat uterus  
Gynec. Invest. 4, 155- 164

Westphal U. (1971)

Steroid- Protein- Interaction

Molecular aspects of the interaction

Springer- Verlag Berlin, S. 61u. 62

Yamaji T., Dierschke D. J., Bhattacharya A. N.

and Knobil E. (1972)

The negative feedback control by estradiol

and progesterone of LH secretion in the

ovariectomized rhesus monkey

Endocrinology, 90, 771- 777

TABELLENANHANG

Tabelle 36

Tier: "Kona"

Zykluslänge : 21 Tage

| Tag | FSH       |            |          | LH               |            |          | Progesteron |            |          |
|-----|-----------|------------|----------|------------------|------------|----------|-------------|------------|----------|
|     | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Frequenz | $\bar{x}$        | $\Delta x$ | Frequenz | $\bar{x}$   | $\Delta x$ | Frequenz |
|     | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min      | ng/<br>ml        | ng/<br>ml  | min      | ng/<br>ml   | ng/<br>ml  | min      |
| 5   | 53,4      | 30,7       | 120      | 0,74             | 0,85       | 280      | 2,4         | 0,9        | 220      |
| 8   | 57,5      | 38,1       | 150      | 0,8              | 1,05       | 260      | 3,6         | 1,5        | 480      |
| 15  | 47,4      | 32,7       | 115      | 0,84             | 0,77       | 154      | 4,74        | 1,76       | 108      |
| 18  | 44,0      | 41,8       | 125      | 0,92             | 1,0        | 125      | 3,7         | 1,84       | 125      |
| 21  | 34,9      | 15,6       | 60       | 1,5 <sup>+</sup> | 0,8        | 46       | 0,2         | ---        | ---      |
|     |           |            |          |                  |            |          |             |            |          |

<sup>+</sup> bis zum präovulatorischen LH- Anstieg

Tabelle: 37

Tier: "Rotina"

Zykluslänge: 26 Tage

| Tag | FSH       |            |               | LH        |            |               | Progesteron |            |               |
|-----|-----------|------------|---------------|-----------|------------|---------------|-------------|------------|---------------|
|     | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$   | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz |
|     | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml   | ng/<br>ml  | min           |
| 0   | 72,1      | 36,1       | 68            | 1,5       | 0,62       | 57            | 0,1         | ---        | ---           |
| 3   | 77,4      | 41,8       | 106           | 1,4       | 0,7        | 55            | 0,5         | ---        | ---           |
| 14  | 82,2      | 53,3       | 104           | 0,94      | 1,4        | 240           | 5,9         | 2,7        | 240           |
| 18  | 87,2      | 76,7       | 128           | 0,86      | 1,0        | 270           | 5,8         | 2,7        | 150           |
| 21  | 85,6      | 55,1       | 112           | 1,0       | 1,7        | 234           | 6,0         | 2,3        | 132           |
| 24  | 116,2     | 50,5       | 66            | 1,64      | 0,8        | 51            | 1,0         | ---        | ---           |

Tabelle: 38

Tier: "Rinette"

Zykluslänge: 22 Tage

| Tag | FSH       |            |               | LH        |            |               | Progesteron |            |               |
|-----|-----------|------------|---------------|-----------|------------|---------------|-------------|------------|---------------|
|     | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$   | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz |
|     | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml   | ng/<br>ml  | min           |
| 3   | 34,8      | 27,3       | 145           | 0,50      | 0,30       | 120           | 0,20        | ---        | ---           |
| 7   | 30,6      | 38,4       | 124           | 0,41      | 0,30       | 440           | 4,3         | 1,4        | 116           |
| 10  | 37,0      | 23,0       | 125           | 0,47      | 0,70       | 340           | 7,6         | 3,2        | 180           |
| 14  | 47,0      | 51,8       | 128           | 0,64      | 1,85       | 250           | 9,2         | 3,2        | 155           |
| 18  | 32,7      | 24,0       | 125           | 0,53      | 0,80       | 180           | 10,2        | 4,35       | 155           |
| 21  | 26,6      | 29,3       | 78            | 1,00      | 0,76       | 65            | ,4          | ---        | ---           |

Tabelle: 39

Tier: "Rodos"

Zykluslänge: 23 Tage

| Tag | FSH       |            |          | LH        |            |          | Progesteron |            |          |
|-----|-----------|------------|----------|-----------|------------|----------|-------------|------------|----------|
|     | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Frequenz | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Frequenz | $\bar{x}$   | $\Delta x$ | Frequenz |
|     | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min      | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min      | ng/<br>ml   | ng/<br>ml  | min      |
| 3   | 35,4      | 10,2       | 62       | 0,84      | 0,30       | 60       | 0,3         | ---        | ---      |
| 9   | 59,5      | 23,7       | 130      | 0,68      | 1,30       | 520      | 6,4         | 2,1        | 135      |
| 13  | 34,2      | 14,6       | 94       | 0,60      | 0,90       | 280      | 8,4         | 2,3        | 120      |
| 16  | 40,7      | 21,8       | 186      | 0,55      | 0,60       | 460      | 8,4         | 2,7        | 186      |
| 19  | 43,5      | 16,1       | 94       | 0,78      | 0,50       | 98       | 8,1         | 2,5        | 132      |
| 22  | 26,7      | 11,4       | 82       | 1,10      | 0,30       | 51       | 0,5         | ---        | ---      |



Tabelle: 41

Tier: " Butzl "

Zykluslänge: 20- 21 Tage

| Tag | FSH       |            |               | LH        |            |               | Progesteron |            |               |
|-----|-----------|------------|---------------|-----------|------------|---------------|-------------|------------|---------------|
|     | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$ | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz | $\bar{x}$   | $\Delta x$ | Fre-<br>quenz |
|     | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml | ng/<br>ml  | min           | ng/<br>ml   | ng/<br>ml  | min           |
| 0?  | 50,6      | 15,9       | 86            | 1,53      | 0,30       | 48            | 0,4         | ---        | ---           |
| 3?  | 29,0      | 15,1       | 72            | 1,47      | 0,45       | 48            | 0,2         | ---        | ---           |
| 6?  | 38,0      | 19,8       | 55            | 1,08      | 0,30       | 55            | 1,2         | ---        | ---           |
| 10? | 24,4      | 12,2       | 100           | 0,96      | 0,50       | 86            | 2,3         | 0,5        | 80            |
| 13? | 23,3      | 15,0       | 110           | 0,96      | 0,60       | 110           | 1,95        | 0,7        | 104           |
| 17? | 38,2      | 20,2       | 165           | 0,74      | 0,70       | 250           | 6,8         | 1,7        | 98            |

Meinen besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. H. Karg für die Überlassung des Themas und die gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit ausdrücken.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. E. Schallenberger für die wissenschaftliche Betreuung und seine ständigen Anregungen.

Mein Dank gilt auch allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Physiologie der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weihenstephan der Technischen Universität München, die meiner Arbeit stets mit Verständnis begegneten.

## LEBENS LAUF

- 10.10.1955 geboren in Moers als zweites Kind des Heizungsbauers Josef Weißbacher und seiner Frau Anna Weißbacher, geborene Weber
- 1961- 1965 Volksschule Rheinkamp- Eick
- 1965- 1971 Realschule Rheinkamp
- 1971- 1974 Gymnasium Rheinkamp
- 1974- 1975 Schwesternhelferin im Krankenhaus Freising
- 1975- 1980 Studium der Tiermedizin an der Universität München
- 1978 Heirat mit Johann Schöndorfer, Dipl.- Ing. für Brauwesen und Getränketechnologie
- 1980- 1981 halbtags tätig als Assistentin bei Dr. med. vet. M. Hecht, Fachtierarzt für Geflügel, in Freising
- gleichzeitig Anfertigung der vorliegenden Dissertation am Institut für Physiologie der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft der Technischen Universität München in Freising-Weißenstephan







